

Министерство образования и науки Российской Федерации
федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Школа Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий

Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы
Изучение вольтамперометрического поведения патулина на углеродсодержащих электродах

УДК 543.552:547.812:544.6.074.32

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
9ДМ81	Хусаинова Альбина Файзирахмоновна		

Руководитель

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ведущий научный сотрудник ИШХБМТ	Слепченко Галина Борисовна	Д.х.н., профессор		

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН ШБИП	Якимова Татьяна Борисовна	К. экон.н.		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ООД ШБИП	Горбенко Михаил Владимирович	К.т.н.		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП 18.04.01 Химическая технология	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор ИШХБМТ	Романенко С.В.	Д.х.н.		

Министерство образования и науки Российской Федерации
 федеральное государственное автономное образовательное учреждение
 высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Планируемые результаты обучения
по ООП 18.04.01 (магистр)
направление «Химическая технология»

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)
Общекультурные компетенции	
P1	Способность самостоятельно совершенствовать и развивать свой интеллектуальный, общекультурный и профессиональный уровень, добиваться нравственного и физического совершенствования своей личности
P2	Готовность к кооперации с коллегами для выполнения научно-исследовательских и научно-производственных работ, в том числе интернациональных; способность проявлять инициативу, личную ответственность; быть коммуникабельным.
P3	Демонстрировать понимание вопросов устойчивого развития современной цивилизации, безопасности и здравоохранения, юридических аспектов, ответственности за инженерную деятельность, влияние инженерных решений на социальный контекст и социальную среду
Профессиональные компетенции	
P4	Способность к овладению базовыми знаниями в области базовых естественных и технических наук, применение их в различных видах профессиональной деятельности
P5	Понимать сущность и значение информации в развитии современного информационного общества, быть готовым к использованию в профессиональной деятельности информационных и коммуникативных технологий
P6	Быть способным к планированию, проведению теоретических и экспериментальных исследований, обработке полученных результатов и представлению их в форме, адекватной задаче
P7	Быть способным к организационно-управленческой и инновационной деятельности в биофармацевтической области, демонстрировать знания для решения проблем устойчивого развития



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий
Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ООП
18.04.01 Химическая технология
_____ С.В.Романенко
09.03.2020 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

Магистерской диссертации

(бакалаврской работы, дипломного проекта/работы, магистерской диссертации)

Студенту:

Группа	ФИО
9ДМ81	Хусаиновой Альбине Файзирахмоновне

Тема работы:

Изучение вольтамперометрического поведения патулина на углеродсодержащих электродах	
Утверждена приказом директора (дата, номер)	№59-74с от 28.02.2020г.

Срок сдачи студентом выполненной работы:	05.06.2020 г.
---	---------------

Техническое задание:

Исходные данные к работе (наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).	Главным объектам исследования являются патулин-микотоксин, вырабатываемый различными грибами. Патулин занимает особое место среди микотоксинов, широко распространившись и проявивший себя в качестве причины пищевых токсикозов.
---	---

Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов (аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).	1. Литературный обзор; 2. Объекты и методы исследования; 3. Результаты и обсуждение; 4. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение; 5. Социальная ответственность; 6. Заключение.
Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей)	-
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы (с указанием разделов)	
Раздел	Консультант
«Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»	Якимова Т.Б.
«Социальная ответственность»	Горбенко М.В.
«Английский язык»	Устюжанина А.К.
Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:	
На русском: Глава 1 Литературный обзор; 1.2 Физико-химические и токсикологические свойства патулина; 1.2.1 История открытия патулина и нормы его содержания в продуктах; 1.2.2 Неблагоприятные последствия для здоровья, связанные с патулином; 1.2.3 Контроль микотоксинов; 1.3. Физико-химические методы определения микотоксинов; 1.3.1 Хроматографические методы определения микотоксинов; 1.3.2. Другие методы определения микотоксинов; 1.4 Вольтамперометрические методы анализа пищевых продуктов на содержания микотоксинов	
На английском: Chapter 1 Literature Review; 1.2 Physico-chemical and toxicological properties of patulin; 1.2.1 History of the discovery of patulin and the norms of its containing in products; 1.2.2 Patulin-related adverse health effects; 1.2.3 Mycotoxin control; 1.3. Physico-chemical methods for the determination of mycotoxins; 1.3.1 Chromatographic methods for the determination of mycotoxins; 1.3.2. Other methods for the determination of mycotoxins; 1.4 Voltammetric methods for the analysis of food products on the content of mycotoxins	

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	
---	--

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ведущий научный сотрудник ИШХБМТ	Слепченко Галина Борисовна	д.х.н.		09.03.2020 г.

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
9ДМ81	Хусаинова Альбина Файзирахмоновна		09.03.2020 г.

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»

Студенту:

Группа		ФИО	
9ДМ81		Хусаинова Альбина Файзирахмоновна	
Школа	Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий	Отделение школы(НОЦ)	
Уровень образования	Магистратура	Направление/специальность	Химическая технология/ Перспективные химические и биомедицинские технологии

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	Стоимость выполняемых работ, материальных ресурсов, согласно применяемой техники и технологии, в соответствии с рыночными ценами. Оклады в соответствии с окладами сотрудников «НИ ТПУ»
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	– районный коэффициент- 1,3; – коэффициент доплат – 0,2; – накладные расходы – 16%
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	Коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды – 30,2%

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НТИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	Технико-экономическое обоснование научно-исследовательской работы; потенциальные потребители результатов исследования; проведение SWOT-анализа НТИ.
2. Планирование процесса управления НТИ: структура и график проведения, бюджет, риски и организация закупок	Планирование комплекса работ по проведению НТИ; Расчет бюджета затрат на НТИ.
3. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности исследования	Расчет сравнительной эффективности проекта

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

1. Матрица SWOT
2. Диаграмма Исикавы
3. Календарный план график проведения работ

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	02.03.2020
--	------------

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Якимова Татьяна Борисовна	к.экон.н.		02.03.2020

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
9ДМ81	Хусаинова Альбина Файзирахмоновна		02.03.2020

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»**

Студенту:

Группа	ФИО
9ДМ81	Хусаинова Альбина Файзирахмоновна

Школа	Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий	Отделение (НОЦ)	
Уровень образования	Магистратура	Направление/специальность	Химическая технология/ Перспективные химические и биомедицинские технологии

Тема ВКР:

Изучение вольтамперометрического поведения патулина на углеродсодержащих электродах	
Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения	<p>Объекты исследования: патулин Рабочая зона: лаборатория ТПУ; Прибор - в работе использованы комплексы аналитические вольтамперометрические «СТА» и «СТА – элемент» Методика - подготовка посуды, электродов к работе, проверка посуды на чистоту, получение вольтамперограммы фонового электролита, далее при постепенном добавлении патулина в раствор регистрация его аналитического сигнала с показаниями высоты и потенциала пика. Область применения: пищевая промышленность; контрольно-аналитические лаборатории</p>
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности: <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны. 	<p>Федеральный закон № 426-ФЗ от 28 декабря 2013 года «О специальной оценке условий труда» Федеральный закон № 123-ФЗ от 22.07.2008 г (ред. от 10.07 2012 г.) «Технический регламент о требованиях к пожарной безопасности»</p>

2. Производственная безопасность: 2.1. Анализ выявленных вредных и опасных факторов 2.2. Обоснование мероприятий по снижению воздействия	– Отклонение показателей микроклимата; – Превышение уровня шума; – Отсутствие или недостаток естественного света; - Работа с вредными и опасными химическими веществами. - Средства защиты коллективные и индивидуальные. К опасным факторам относят оборудование с повышенной или пониженной температурой поверхности, токоведущие части электрооборудования, повышенное значение напряжения в электрической цепи, возникновение пожара. Используемые средства защиты: спецодежда, перчатки, очки, респиратор.
3. Экологическая безопасность:	Атмосфера: воздействие за счет газообразных продуктов, образующихся в ходе химических реакций на этапах анализа Гидросфера: воздействие за счет попадания в общую систему водоотведения реактивов, опасных веществ Литосфера: Химическое загрязнение почвы при неверной утилизации органических отходов, реактивов
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	-замыкание проводки и возгорание; -возникновение пожара на рабочем месте.
Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ООД	Горбенко Михаил Владимирович	К.Т.Н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
9ДМ81	Хусаинова Альбина Файзирахмоновна		



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Школа: Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий

Направление подготовки (специальность): 18.04.01 Химическая технология

Уровень образования: Магистратура

Период выполнения: осенний /весенний семестр 2019 /2020 учебного года

Форма представления работы:

<u>Магистерская диссертация</u>
(бакалаврская работа, дипломный проект/работа, магистерская диссертация)

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН

выполнения выпускной квалификационной работы

<u>Срок сдачи студентом выполненной работы:</u>	
---	--

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
23.03.2020 г.	Литературный обзор по теме исследования	10
06.04.2020 г.	Проведение эксперимента	10
20.04.2020 г.	Обсуждение результатов эксперимента	10
04.05.2020 г.	Составление заключения по полученным результатам исследования	10
18.05.2020 г.	Разработка разделов «Социальная ответственность» и «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение», раздела ВКР на иностранном языке	10
05.06.2020 г.	Оформление ВКР	10
19.06.2020 г.	Представление ВКР	40

Составил преподаватель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Ведущий научный сотрудник ИШХБМТ	Слепченко Г.Б.	Д.х.н., профессор		09.03.2020 г.

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ООП 18.04.01 Химическая технология	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор ИШХБМТ	Романенко С.В.	Д.х.н.		09.03.2020 г.

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа состоит из 115 листов, 70 источников литературы, 27 таблиц и 17 рисунков.

Ключевые слова: патулин, инверсионная вольтамперометрия, стеклоуглеродный электрод, фруктовые соки, нектары.

Объектами исследования являются фруктовые соки и нектары, содержание патулина регламентируются нормативной документацией.

Целью данной работы является: изучение основных вольтамперометрических закономерностей патулина и разработка методики его определения в фруктовых соках и нектарах.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Исследовать вольтамперометрические свойства патулина в модельных средах на различных типах углеродсодержащих электродах.
2. Исследовать мешающее влияние сопутствующих компонентов матрицы пищевых объектов (фруктовые соки и нектары) на аналитический сигнал патулина. Выбрать условия пробоподготовки исследуемых объектов.
3. Разработать вольтамперометрическую методику определения патулина в фруктовых соках и нектарах.

В рамках магистерской диссертации разрабатывалась методика вольтамперометрического определения патулина во фруктовых соках и нектарах

Работа представлена введением, 5 разделами и заключением, приведен список использованных источников.

Магистерская диссертация выполнена в научной группе проф. Слепченко Г.Б. ИШХМБТ магистрантом группы 9ДМ81 А.Ф. Хусаиновой под руководством д.х.н. Слепченко Г.Б.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЛД₅₀ - средняя доза вещества в миллиграммах на 1 килограмм живой массы, вызывающей гибель, 50% подопытных животных.

АОАС International - The Association of Official Analytical Chemists (Ассоциация официальных химиков сельского хозяйства)

5-ОМФ – 5-оксиметилфурфурол

ПДК - предельно допустимые концентрации

МДУ - максимально-допустимые уровни

ВОЗ (WHO) - Всемирная организация здравоохранения

ЭМА - электрохимические методы анализа

ВАИ - Вольтамперометрические измерения

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	13
ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	15
1.1 Микотоксины и их характеристика.....	15
1.2 Физико-химические и токсикологические свойства патулина	17
1.2.1 История открытия патулина и нормы его содержания в продуктах	21
1.2.2 Неблагоприятные последствия для здоровья, связанные с патулином....	23
1.2.3 Контроль микотоксинов.....	24
1.3 Физико-химические методы определения микотоксинов	25
1.3.1 Хроматографические методы определения микотоксинов	27
1.4 Вольтамперометрические методы анализа пищевых продуктов на содержания микотоксинов	32
ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	36
2.1 Приборы, электроды, ячейки	36
2.1.1 Электроды.....	37
2.1.2 Стандартные образцы и аттестованные смеси.....	38
2.2 Приготовление растворов. очистка посуды	39
2.3 Методика проведения эксперимента	40
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.....	41
3.1 Вольтамперометрическое определение патулина	41
3.1.1 Исследование вольтамперометрического поведения патулина на стеклоуглеродном электроде	41
3.2 Разработка вольтамперометрической методики определения патулина в фруктовых соках и нектарах.	45
ГЛАВА 4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ.....	48
4.1 Потенциальные потребители результатов исследования	48
4.1.2 Оценка готовности проекта к коммерциализации	50

4.1.3 Метод коммерциализации результатов научно-технического исследования	52
4.2 Инициация проекта	53
4.3 Планирование управления научно-техническим проектом	56
4.3.1 Иерархическая структура работ проекта	56
4.3.2 Контрольные события проекта	57
4.3.3 План проекта	57
4.3.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)	61
4.3.5 Организационная структура проекта	66
4.3.6 Матрица ответственности	66
4.3.7 План управления коммуникациями проекта	67
4.3.8 Реестр рисков проекта	68
4.4 Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования	69
4.4.1. Оценка сравнительной эффективности исследования	69
ГЛАВА 5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ	71
5.1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	90
Список использованной литературы	92
Приложение А	99

ВВЕДЕНИЕ

Среди особо опасных биогенных ядов, загрязняющих корма и продукты питания, особое место занимают микотоксины – вторичные метаболиты плесневых грибов, которые отличаются высокой токсичностью. На данный момент известно более 250 видов различных плесневых грибов, выделяющих более 500 токсических метаболитов, которые являются причиной серьезных заболеваний человека и животных [1]. Для роста плесени благоприятны следующие условия: содержание влаги в корме свыше 11,5%, относительная влажность воздуха свыше 70%, присутствие кислорода 1-2%, температура выше 20°C.

Потери от микотоксикозов животных и птицы существенны и определяются: высокой летальностью и вынужденным убоем; отчетливым снижением продуктивности; нарушением воспроизводства; большими затратами на лечение; изъятием значительных масс кормов [2].

Наиболее токсичными свойствами, обусловленными взаимодействием микотоксинов с нуклеофильными участками ДНК, РНК и белков, обладают афлатоксины, продуцируемые микроскопическими грибами *Aspergillus*, среди которых наиболее опасным гепатоканцерогеном является патулин [2].

Человеческие микозы являются проблемой общественного здравоохранения, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом, онкологических больных, больных на лекарственных средств и др. воздействие любого ксенобиотика, в том числе радиоактивных материалов, углеводов, тяжелых металлов и микотоксинов, приводит к проблемам иммунной системы, пищеварительной системы, нарушений нервной системы, дисфункции печени и почек, а также ведут к онкологическим заболеваниям. Грибки, продуцирующие микотоксины, представляют собой серьезную проблему для общественного здравоохранения, поскольку накопленные в организме микотоксины могут быть токсичными, канцерогенными, мутагенными и воздействовать на различные системы организма. обнаружение микотоксинов имеет первостепенное значение для контроля качества пищевых продуктов [2].

В настоящее время патулин считается глобальной проблемой и многие страны контролируют содержание патулина в пищевых продуктах. следовательно, большое практическое значение имеет разработка метода обнаружения следов патулина в пищевых продуктах и сельскохозяйственном сырье.

Таким образом, цель данной работы – изучение основных вольтамперометрических закономерностей патулина и разработка методики его определения в фруктовых соках и нектарах.

Задачи, поставленные в ходе выполнения научной работы:

- 1) исследовать вольтамперометрические свойства патулина в модельных средах на различных типах углеродсодержащих электродах.
- 2) исследовать мешающее влияние сопутствующих компонентов матрицы пищевых объектов (фруктовые соки и нектары) на аналитический сигнал патулина. выбрать условия пробоподготовки исследуемых объектов.
- 3) разработать вольтамперометрическую методику определения патулина в фруктовых соках и нектарах.

ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Микотоксины и их характеристика

Микотоксины являются низкомолекулярными вторичными метаболитами, выделяемыми различными типами грибов. Их химическая структура может варьироваться от простых четырехуглеродных (C₄) соединений до сложных веществ. Упоминания о них присутствуют еще с древних времен, но особый интерес к данным токсинам возник лишь в 60-х гг. XX века.

Основными факторами образования микотоксинов являются температура и влажность [13]. Большинство микотоксинов относительно термостабильны в обычном диапазоне температур обработки пищевых продуктов (80–121⁰C), следовательно, мало или совсем не разрушается при нормальных условиях приготовления, таких как варка и жарка, или даже после пастеризации.

Микотоксины оказывают значительное вредное воздействие на сельскохозяйственный сектор и пищевую промышленность из-за загрязнения продуктов питания и корма. Они вполне могут образоваться еще в поле, когда растения начинают расти и набираться сил, а также на всех этапах обработки, хранения, транспортировки и продажи. Зерновые культуры, хранящиеся нескольких дней, уже могут стать мишенью для заражения токсинами. Стоит отметить, что виды *Penicillium* обладают способностью расти в холодильниках, что увеличивает возможность производства патулина во время хранения. Если на любом из этапов сбора урожая и после сбора урожая повреждена кожура плода либо механическим путем, либо насекомыми или укусами животных, плод становится более подверженным микробной порче, поскольку он дает бактериям и грибам доступ к мягкой ткани плода. Птицы, грызуны и насекомые, могут нести на себе микроорганизмы, поэтому их следует всегда держать подальше от свежих фруктов. Кроме того, некоторые испорченные плоды могут инфицировать неповрежденные плоды и вызывать повреждения, которые допускают их собственное проникновение и проникновение других микроорганизмов. Неправильная демонстрация фруктов на рынке может также привести к

перекрестному загрязнению товаров. Плохая гигиеническая практика работников может привести к загрязнению во время показа и окончательных маркетинговых процессов. Наконец, любая неправильная производственная практика считается возможным путем загрязнения [2].

Микотоксины являются причиной тяжелых отравлений, микотоксикозов в организме животных и людей.

Широко распространены и представляют серьезную угрозу для здоровья человека это афлатоксины, охратоксин А, патулин, фумонизины, дезоксиниваленол, ниваленол, зеараленон, токсины Т-2 и НТ-2 [19]. Поступают микотоксины в организм человека в результате потребления в пищу зараженных продуктов питания.

В настоящее время микотоксины нормируются в растительной продукции во многих странах, включая РФ, где установлены ПДК или МДУ для некоторых микотоксинов [13].

Контролируя загрязнения продуктов этими токсинами, разрабатывая достоверные, экспрессные и чувствительные методы их индикации, нормирую безопасную концентрацию микотоксинов можно решить проблемы, связанные с предотвращением поражения сельскохозяйственной продукции плесневыми грибами. Стоит отметить, что плесневые грибы не просто покрывают поверхность, а проникают глубоко внутрь.

Каждый год ущерб от плесневых грибов на сельскохозяйственной продукции и промышленном сырье в мире больше 30 млрд долларов.

Микотоксикозы представляют огромную опасность для здоровья людей во всем мире. Масштаб опасности хронических форм существенно превышают известные вспышки острых форм отравлений в Индии, США, России, Японии Китае с летальным исходом для многих тысяч людей.

Механизмы образования микотоксинов из первичных метаболитов зависят от вида продуцирующего организма и условий биосинтеза. Включает следующие механизмы:

- 1) поликетидный (афлатоксин, охратоксин, патулин). Этот механизм считается основным практически для многих микотоксинов;
- 2) терпеноидный (трихотеценовые микотоксины);
- 3) не прямой через цикл трикарбоновых кислот (рубратотоксины);
- 4) аминокислотный (исходные соединения-аминокислоты), эргоалкалоиды, циклопиазоновая кислота;
- 5) смешанный (когда два и более механизмов), производные циклопиазоновой кислоты. Исходя из числа включенных в молекулу C2 единиц микотоксины подразделяются на монокетиды (зеараленон), тетракетиды (патулин), пентакетиды (охратоксин), гексакетиды, гептакетиды, октакетиды, декакетиды (афлатоксины) [17].

Нарушение технологических регламентов производства продуктов, уборка урожая не вовремя, некачественная сушка его перед закладкой на хранение, недостаточная защита урожая от влаги – все эти погрешности приводят к распространению токсинов. Размножаясь на продуктах, помимо загрязнения их токсинами, плесневые грибы портят органолептические свойства продуктов, тем самым снижая их пищевую ценность, что приводит их к порче, делая негодными для дальнейшей переработки. Использование контаминированных кормов в животноводстве является причиной заболевания и гибели животных.

Патулин занимает особое место среди микотоксинов, широко распространившись и проявивший себя в качестве причины пищевых токсикозов.

1.2 Физико-химические и токсикологические свойства патулина

Патулин (4-гидрокси-4Н-фуран [3,2-с] пиран-2 (6Н) -ОН) (рисунок 1) представляет собой ненасыщенный гетероциклический лактон [11], микотоксин, вырабатываемый различными грибами, по крайней мере 60 различными видами, в частности *Aspergillus*, *Byssoschlamys* и *Penicillium*. Среди *Aspergillus* к числу видов, продуцирующих патулин, относятся: *A. clavatus*, *A. giganteus* и *A. longivesica*. В роду *Penicillium* насчитывается 13 видов, продуцирующих патулин, включая *P.*

carneum, *P. clavigerum*, *P. concentricus*, *P. coprobium*, *P. dipodomyicola*, *P. expansum*, *P. glandicola*, *P. gladioli*, *P. griseofulvum*, *P. marinum*, *P. paneum*, *P. sclerotigenum* и *P. vulpinum* [12].

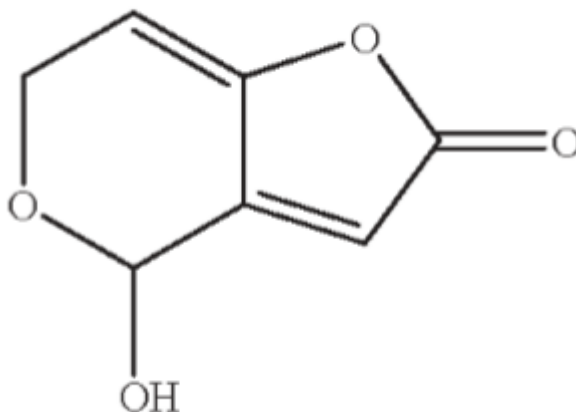


Рисунок 1- Структурная формула патулина

Имеет эмпирическую формулу $C_7H_6O_4$, представляет собой белый порошок с молекулярной массой 154,12 г/моль и температурой плавления 111 °С [41]. Он растворим в воде и полярных органических растворителях: метанол, этанол, ацетон и этилацетат. Не разрушается высокой температурой, и он довольно устойчив в кислой среде, но нестабилен в щелочной среде и к ферментации. Из-за его электрофильного характера, патулин реагирует с нуклеофилами, особенно с сульфгидрильными группами и аминогруппами, такие как цистеин, глутатион, белки и т. д. Он постепенно разрушается при хранении в присутствии сульфитов, сульфгидрильных групп и аскорбиновой кислоты.

На ультрафиолетовом спектре присутствует полоса поглощения при 276нм (ϵ 16600), обусловленная наличием кето-группы, сопряженной с непредельными связями.

Согласно многим биохимическим исследованиям, путь биосинтеза патулина состоит из 10 этапов (рисунок 2) [2].

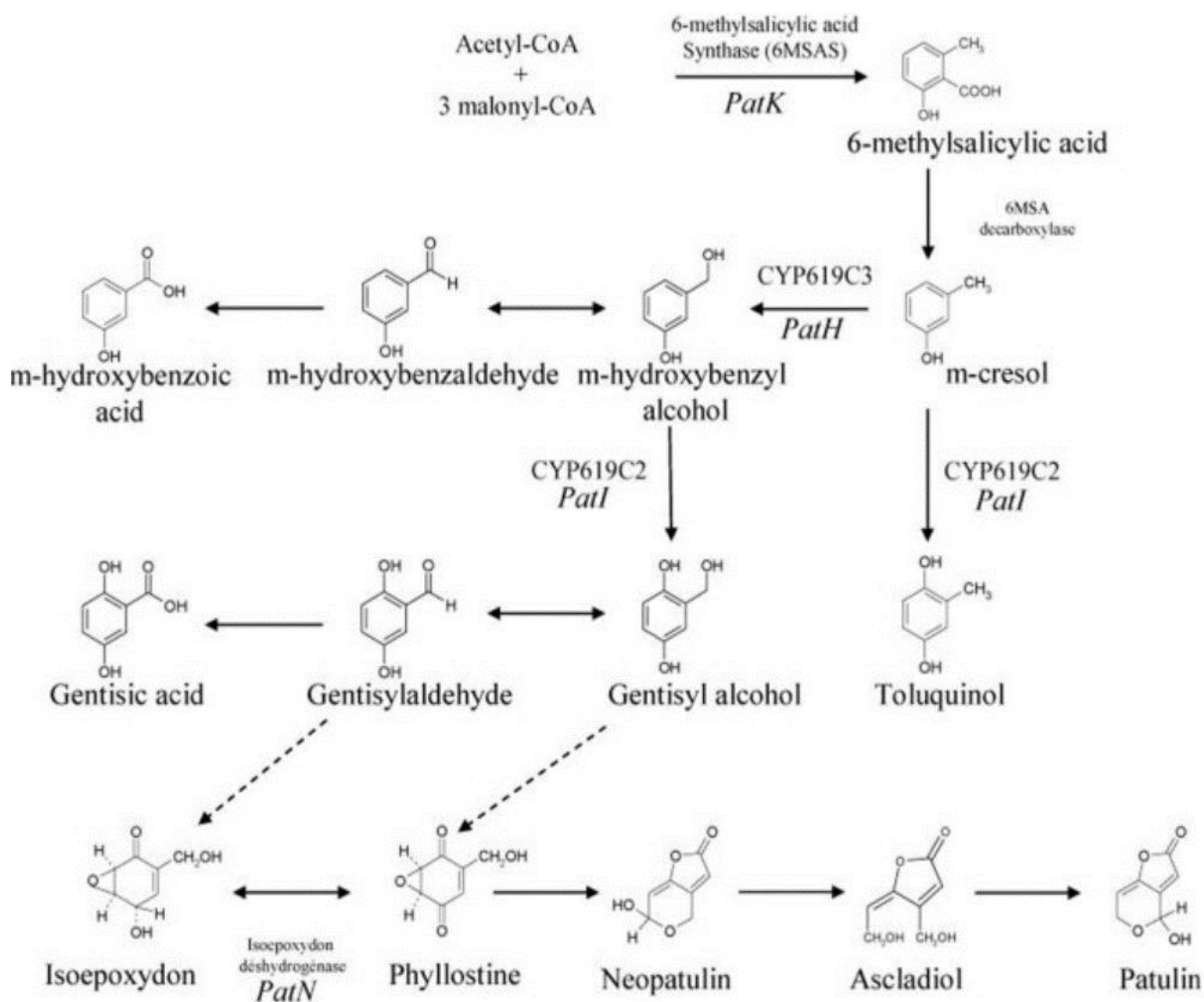


Рисунок 2 - Пути биосинтеза патулина

P. expansum - это основной пищевой загрязнитель, производящий патулин [2, 11]. Поскольку разные микроорганизмы имеют разные потребности в питательных веществах, определенные виды грибов загрязняют некоторые продукты питания и даже фрукты. *P. expansum* предпочитает семечковые и косточковые фрукты, такие как персики, вишня и фрукты, у которых они вызывают «голубую гниль» (рис. 3).



Рисунок 3 – Голубая гниль на яблоках

Продукция патулина зависит от различных факторов, таких как температура, рН и другие физиологические параметры. диапазон температур для роста *P. expansum* и выработки патулина составляет 0–24⁰С. До сих пор не ясно, когда грибы выделяют патулин. Например, уровень патулина, выделяемого *P. expansum* при заражении яблок может варьироваться от 2 до 100 мкг/г; однако точный уровень не связан ни с инфекционными характеристиками грибковых видов, ни с их патогенностью [2].

В исследованиях химической стабильности сообщалось, что патулин не разрушался в яблочном соке при температуре 80⁰С в течение 20 мин. Также было небольшое уменьшение патулина в соке, хранящемся до 3 недели при 22 с. Патулин устойчив к термическому разрушению, диапазон рН 3,5–5,5 при нагревании до 125⁰С.

Содержание патулина в пище может быть снижено по всей цепочке обработки пищевых продуктов. Правильная обработка, хранение и транспортировка продуктов могут ограничить рост грибов и выработку патулина. Общие методы обработки, включая пастеризацию, фильтрацию и ферментацию, влияют на содержание патулина в пищевых продуктах, но сами по себе не являются достаточными мерами безопасности [46].

Количество патулина в соках может быть уменьшено после удаления гнилых или поврежденных плодов, но не может быть полностью удалено, поскольку микотоксин диффундирует в здоровые части плода [44].

1.2.1 История открытия патулина и нормы его содержания в продуктах

Патулин — один из часто встречающихся микотоксинов, который обладает выраженными канцерогенными и мутагенными свойствами. Патулин содержится во многих пораженных гнилью овощах, фруктах и зерновых культурах, но наиболее характерными источниками являются яблоки и продукты их обработки, где содержание патулина может достигать до 17,5 мг/кг он обнаруживается также в грушах, бананах, томатах, облепихе, абрикосах, персиках, черешне, винограде, клубнике, голубике, бруснике, калине. Патулин легко оказывается во фруктовых соках во время обработки из-за своих физических свойств. таких как хорошая растворимость в воде, стабильность при нагревании и в кислой среде.

Исследование этого микотоксина было первоначально связано с его антибиотическими свойствами. После открытия пенициллина в 1929 году ученые были заинтересованы в поиске других антибиотиков, вырабатываемых грибами. Впервые он был выделен из *Penicillium griseofulvum* в 1943 году Гарольдом Рейстриком. Вскоре после его идентификации патулин был изучен в британском медицинском исследовательском центре под названием «терцинин» в качестве антимикробного агента против некоторых грамположительных и грамотрицательных бактерий, таких как *Mycobacterium tuberculosis* [2]. В 1940-х годах патулин был исследован тщательно для потенциального использования в качестве антибиотика. Изначально выделен как противогрибковый препарат широкого спектра действия, позже было обнаружено, что он подавляет более 75 различных бактериальных видов, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии, также токсичен для широкого спектра других биологических систем, включая крыс, кошек, кроликов и мышей. Лишь в 1954 году вспышка отравления крупного рогатого скота продемонстрировала ветеринарам,

что патулин является микотоксином. Из-за его токсичности использование как антибиотика было прекращено [18].

Кроме того, доказано, что патулин токсичен как для растений, так и для дрожжей [12].

Патулин входит в список микотоксинов, уровень которых в пищевых продуктах регулируются. Этот список включает афлатоксины, охратоксин А, фумонизины, трихотецены и зеараленон.

Национальными и международными группами рекомендовано для используемых в питании человека яблочных продуктов содержание остаточных количеств патулина не более 50 мг/кг, в то время как большинство стран регламентируют уровень патулина в соке от 20 до 50 мг/кг [18, 42].

Европейский регламент с 2003 года устанавливает максимальный уровень содержания патулина 50 мкг/кг для фруктовых соков и производных продуктов, 25 мкг/кг для твердых яблочных продуктов и 10 мкг/кг для соков и продуктов, предназначенных для младенцев и детей младшего возраста [12]. Несмотря на наличие этих правил, патулин по-прежнему содержится в продуктах питания во всем мире [45].

Кроме того, уровень патулина в яблочных продуктах для детей установлен в 5 раз ниже приемлемого уровня для взрослых, что указывает на то, что дети в возрасте до 12 лет находятся в опасности (ВОЗ, 2005). Дети имеют физиологию, отличную от физиологии взрослых, что делает их более уязвимыми [3]. Многие исследования были сосредоточены также на уровнях воздействия различных загрязнителей на беременных женщинах, так как токсиканты, потребляемые матерью, могут немедленно влиять на развитие плода. Таким образом, беременные женщины являются еще одной группой риска.

В соответствии с рекомендацией европейской комиссии и на основе установленного уровня NOEL (no effect level) патулина (43 мкг/кг массы тела) предварительная максимально допустимая суточная доза патулина была установлена на уровне 0,4 мкг/кг массы тела. Этот уровень был принят

большинством анализов оценки риска для здоровья, проводимых на патулин (ЕС, 2006).

Согласно требованиям технического регламента таможенного союза № 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», в плодовоовощной продукции для питания детей, беременных и кормящих женщин на основе яблок, томатов, облепихи и калины присутствие патулина не допускается [2].

1.2.2 Неблагоприятные последствия для здоровья, связанные с патулином

В настоящее время патулин классифицируется как канцероген человека 3 группы международным агентством по исследованию рака (IARC, 1986) [14], что означает, что недостаточно исследований на животных или эпидемиологических исследований для подтверждения его канцерогенеза (IARC, 2018).

Токсическое воздействие патулина может быть связано с образованием вредных аддуктов с сульфгидрильными группами важных биомолекул. Сродство патулина к сульфгидрильным группам широко описано, объясняя его ингибирующее действие по отношению ко многим ферментам (АТФаза, лизосомальные ферменты, РНК-полимераза и т. д.), его нежелательные эффекты включают разрушение плазматической мембраны, ингибирование синтеза белка, транспорта аминокислот, нарушение транскрипции и трансляция, ингибирование синтеза ДНК, интерферон продуцирующих Т-хелперных клеток 1-го типа.

ЛД50 патулина составляет от 15 до 25 мг/кг и зависит от вида животных и пути воздействия [44].

Патулин является высокореактивной молекулой, способной взаимодействовать с белками с образованием внутримолекулярных и межмолекулярных поперечных связей со специфическими аминокислотами, заставляя их вести себя как ингибитор фермента [45].

Острые симптомы употребления патулина включают возбуждение, судороги, одышку, застой в легких, желудочно-кишечные симптомы включая тошноту, рвоту, язву, кишечные кровоизлияния и поражения двенадцатиперстной кишки. К

хроническим симптомам употреблению патулина относятся генотоксический, нейротоксический и канцерогенный эффекты.

Патулин может образовывать межмолекулярные связи с молекулами ДНК. Эти свойства могут объяснить сообщенные тератогенные и канцерогенные эффекты. Нет сообщений о возможной токсичности патулина при вдыхании токсина в порошкообразной форме.

Кроме того, ВОЗ рассматривает патулин как возможное генотоксическое соединение (WHO, 2005).

В настоящее время вопрос по разработке экспрессных, экономичных и высокочувствительных методик для измерения массовых концентраций патулина в различных объектах, в том числе пищевых продуктах, остается открытым.

1.2.3 Контроль микотоксинов

Были приняты три основные стратегии уменьшения или даже устранения присутствия микотоксинов в пищевых продуктах: предотвращение загрязнения микотоксинами в период до и после сбора урожая, детоксикация микотоксинов, присутствующих в продуктах питания, и ингибирование всасывание микотоксинов в желудочно-кишечном тракте. Профилактические меры, направленные на подавление образования микотоксинов в сельскохозяйственных продуктах, являются наиболее эффективным подходом для предотвращения воздействия на потребителей. Должное управление фермой, методы выращивания растений для улучшения жизнеспособности, использование инсектицидов, фунгицидов, а также биологический контроль, ирригация и отбор сортов гарантируют, что растения будут менее подвержены к неблагоприятным факторам воздействия [44].

Однако, не каждое хранилище имеет доступ ко всем этим технологиям, и есть проблемы с чрезмерным использованием химических фунгицидов. Улучшение качества фруктов, подлежащих обработке, с помощью мытья, обрезки и сортировки - все это очень полезные средства для контроля патулина. Эти процессы могут быть экономически нецелесообразными для всех производителей,

поскольку они также значительно увеличивают отходы сырья. Отходы сами по себе представляют проблему загрязнения и требуют особого внимания при обращении и утилизации. Типичные методы предварительной обработки недостаточны, и необходимо дальнейшее уменьшение количества патулина. Тем не менее, доказательства неубедительны относительно фактической эффективности этих методов и поэтому не могут быть использованы для гарантии безопасности. Кроме того, существует обеспокоенность по поводу потенциальной токсичности соединений, образующихся при разложении патулина некоторыми из этих способов. Большинство из этих продуктов еще предстоит идентифицировать, а некоторые из них, как было установлено, являются токсичными [45].

Загрязнения после сбора урожая можно избежать, контролируя влажность, температуру, а также микробиологических вредителей, насекомых и животных. Детоксикация микотоксинов различными физическими, химическими и биологическими методами менее эффективна и иногда ограничена из-за проблем безопасности, возможных потерь в питательном качестве обработанных продуктов и последствий для стоимости. Некоторые из наиболее многообещающих вмешательств, изученных до настоящего времени, включают использование микроорганизмов для снижения абсорбции микотоксинов из потребляемых продуктов в желудочно-кишечном тракте. Экспериментально существуют четкие доказательства способности пробиотических бактерий снижать потенциальную биодоступность определенных микотоксинов у людей, но необходимы дальнейшие исследования [44].

1.3 Физико-химические методы определения микотоксинов

Тот факт, что большинство микотоксинов являются токсичными при очень низких концентрациях, делает необходимым наличие чувствительных и надежных методов их обнаружения. ряд различных аналитических методов были применены к анализу микотоксинов из-за их различной структуры [44]. Определение микотоксинов основано на извлечении этих веществ органическими

растворителями, в т. ч. ацетонитрилом, хлороформом, толуолом, метанолом, этилацетатом, и последующей очистке экстракта на иммуноаффинных колонках или твердофазной экстракцией.

Для определения микотоксинов используют иммунохимические, хроматографические, оптические и электрохимические методы. Иммунохимические методы используют для избирательного определения одного или небольшого числа микотоксинов. В основе которого лежит высокоспецифическое взаимодействие антигена и антитела. Прямые и непрямые методы ИФА были разработаны для обнаружения афлатоксинов и токсинов *Fusarium* в злаках, а также для охратоксина и патулина в винах и образцах пищи [44]. Иммунологический принцип основан на взаимодействии между антигеном (представляющим интерес аналитом) и выделенным антителом, выработанным против антигена. Антитела представляют собой иммуноглобулины IgG или IgY. Распознавание молекулы основано на пространственном комплементе определенных химических групп (эпитоп) на антигене, а не на всем антигене. Для производства антител микотоксины являются гаптенами (слишком маленькими, чтобы вызвать иммунологический ответ), поэтому они конъюгированы с полипептидами или белками для образования иммуногена [16, 40].

Также применяются следующие методы:

Капиллярный электрофорез (КЭ) — это инструментальный метод, который обеспечивает разделение компонентов на основе заряда в растворе, а не хроматографическое взаимодействие между растворенной и стационарной фазой. Разделение достигается путем миграции заряженных частиц в рабочем буфере. Катионы мигрируют на катод, а анионы мигрируют на анод под воздействием электроосмотического потока. Затем аналиты обнаруживаются с использованием флуоресценции или УФ-поглощения. В сочетании с обнаружением флуоресценции КЭ позволяет обнаружение микотоксинов на следовых уровнях [46]. Разделение незаряженных частиц может быть достигнуто путем введения мицелл в методику, известной как мицеллярная электрокинетическая капиллярная хроматография (МЕСС) [16].

В связи с этим исследователи изучили возможность использования инфракрасных (ИК) анализаторов и анализа основных компонентов для скрининга микотоксинов непосредственно из образца зерна. преимуществами этих методов являются простота эксплуатации, быстрый результат и неразрушаемость образца. Гниение ядра и загрязнение фумонизином в кукурузе были обнаружены с помощью спектроскопии отражения ближнего ИК-диапазона, которая позволила провести различие между загрязненными и чистыми партиями [16].

В последнее время различные оптические сенсоры основаны на взаимодействиях антиген-антитело показали отличную производительность для быстрого определения и с высокой чувствительностью, в том числе флуоресценция, кварцевый микробаланс (микровесы), поверхностный плазменный резонанс и так далее. Сенсорные методы показывают высокую селективность, в то время как другие методы имеют свои преимущества.

Для подтверждающего анализа используют более точные и высокочувствительные хроматографические методы [13], позволяющие отделить анализируемый микотоксин от примесей и помех, которые все еще могут присутствовать после очистки экстракта [3, 41, 42].

1.3.1 Хроматографические методы определения микотоксинов

Количественное определение патулина в пищевых продуктах может быть выполнено несколькими методами, такими как тонкослойная хроматография (ТСХ), газовая хроматография с масс-селективной детекцией (ГХ-МС), высокоэффективная жидкостная хроматография с различными типами детекции (УФ, МС, ДМД).

Тонкослойная хроматография (ТСХ) была первым методом, который используется для идентификации и количественного определения патулина в яблочном сок. Метод анализа патулина методом ТСХ был утвержден АОАС на основе исследования, проведенное Скоттом (1974). Этот метод включает в себя экстракция этилацетатом с последующей очисткой с использованием

хроматографической колонки с силикагелем. Предел обнаружения был 20 мг/л (Скотт, 1974).

В этом методе обнаружение было достигнуто путем распыления 3-метил-2-бензотиазолинон гидразона с пределом обнаружения приблизительно 20 мг/л. Однако, его извлечения были низкими, чувствительность была недостаточной, и разделения с матрицей часто были проблематичны. Из-за этого ТСХ в наше время был почти заброшен в рутинном анализе патулина [41, 42].

В целом, ТСХ - это недорогой, быстрый аналитический метод, получения качественных или полуколичественных визуальных оценок; надежные количественные результаты также могут быть получены с помощью денситометрических измерений.

Патулин представляет собой низкомолекулярную полярную молекулу. его низкая изменчивость ограничивает его прямой анализ с помощью ГХ. Из-за своего ограничения летучими и термостабильными соединениями, ГХ не является подходящим методом для коммерческих целей.

Для того, чтобы получить менее полярный, более летучий аналит и выход более специфических ионов, приняты стратегии, такие как ацилирование и образование триметилсилилового эфира. Полученные производные стабильны, с хорошими хроматографическими свойствами для надежного обнаружения патулина. После дериватизации патулин может быть обнаружен с помощью ГХ детектором с захватом электронов. Однако ГХ без масс-спектрометрии не хватает специальных возможностей для идентификации. МС был связан с ГХ, чтобы обеспечить дополнительную селективность и увеличить чувствительность метода. внутренний стандарт (IS), особенно использование изотопов патулина, компенсирует потери целевых аналитов и эффекты подавления матрицы. Следовательно, точный количественный ГХ–МС определения патулина основаны на дериватизации и требуют изотопного меченого патулина как IS, который не был коммерчески доступен до недавнего времени. Метод удачно применен для определения патулина в яблоках и яблочных продуктах, а также в соках, сидре и

детском питании, фруктово-айвовых джемах. Относительно низкий предел обнаружения 5,8 мг/кг [4].

ВЭЖХ нашла широкое применение в области анализа микотоксинов. Полярная природа микотоксинов и их растворимость в воде и органических растворителях, таких как метанол и ацетонитрил, подразумевают, что они легко поддаются разделению на колонках ВЭЖХ с обращенной фазой, и это привело к разнообразным методам. Степень, в которой ВЭЖХ подходит для разделения микотоксинов, может быть измерена на основании базы данных о временах удерживания, показателях удерживания, максимумах поглощения в УФ-спектре и преобладающих моноизотопных ионах для 474 метаболитов грибов. Официальный метод определения патулина представляет собой высокoeffективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым (УФ) детектированием, как описано Ассоциацией официальной аналитической химии. Хроматографическое обнаружение в основном достигается с помощью УФ- и флуоресцентных детекторов, успешное применение методов ионизации при атмосферном давлении привело к разработке ряда методов ЖХ-МС, способных к очень низким пределам обнаружения [38,40]. Внедрение приборов ЖХ-МС сделало возможным разработку мультитоксинных методов, подходящих для ряда структурно разнообразных токсинов в одном хроматографическом цикле. Потребность в таких мультитоксинных методах заключается в том, что один вид грибов продуцирует различные токсины и что один сельскохозяйственный продукт может быть загрязнен различными видами грибов, что приводит к одновременному появлению ряда различных токсинов [16, 41, 42].

Самый распространенный метод, используемый в настоящее время для количественного определения патулина во фруктовых продуктах - ВЭЖХ с УФ детектированием [6,16]. Это официальный метод принят AOAC International (1995) для определения патулина в яблочном соке с пределом обнаружения 5 мг / дм³. В этом методе прозрачный яблочный сок непосредственно экстрагировали этилацетатом; мутный яблочный сок и яблочное пюре обрабатывали пектиназным ферментом до извлечения. Недостатками данного метода являются: мешающее

влияние 5-ОМФ, что часто затрудняет определение точного содержания патулина; низкая селективность; высокий расход растворителя. Поэтому, чтобы подтвердить его наличие, обычно применяются более специфические методы обнаружения, такие как масс-спектрометрия (МС) [7, 40, 41]. В работе [47] для одновременного извлечения микотоксинов и их определения ГХ-МС или ВЭЖХ-МС используют пробоподготовку по QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe).

Метод ВЭЖХ-ДМД обладает доступностью оборудования и более высокой чувствительностью по сравнению с ТСХ, и поэтому является наиболее приемлемым для анализа плодовоовощной продукции на содержание данного микотоксина [15].

Ряд микотоксинов не поглощают в УФ-диапазоне, и для них были разработаны подходящие методы дериватизации, позволяющие обнаруживать УФ или флуоресценцию. Примерами этого являются токсин Т-2 и фумонизины [16, 41].

Соединение ВЭЖХ и МС с помощью методов ионизации при атмосферном давлении (API), таких как электрораспылительная ионизация (ESI) и химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI), и разработка коммерческих настольных приборов, открыли новые методологии для рутинного анализа микотоксинов. В то время как методы ТСХ и ВЭЖХ часто требуют дериватизации для чувствительного детектирования, ЖХ-МС обеспечивает метод детекции, независимый от образования химических производных или от УФ - поглощения или флуоресцентных свойств молекулы [16].

На сегодняшний день в РФ содержание микотоксинов в зерне, плодовоовощной продукции, сухофруктов определяют с использованием следующих ГОСТов и методических указаний [13]:

1) ГОСТ 34140-2017 «Продукты пищевые, корма, продовольственное сырье. метод определения микотоксинов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием» [22];

2) ГОСТ 32835-2014 «Продукция соковая. Определение микотоксинов методом tandemной высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС)» [23];

- 3) ГОСТ 31748-2012 «Продукты пищевые. Определение афлатоксина В1 и общего содержания афлатоксинов В1, В2, G1 и G2 в зерновых культурах, орехах и продуктах их переработки. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии» [24];
- 4) МУ 4082-86 «Методика определения афлатоксинов в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии» [25];
- 5) ГОСТ 30711-2001 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения содержания афлатоксинов В1 и М1» [26];
- 6) ГОСТ 28038-2013 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения микотоксина патулина» [21];
- 7) ГОСТ Р 51435-99 Метод определения содержания микотоксина патулин в соке яблочном, соке яблочном концентрированном и напитках, содержащих яблочный сок с помощью ВЭЖХ» [27];
- 8) ГОСТ 31691-2012 «Зерно и продукты его переработки, комбикорма. определение содержания зеараленона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» [28];
- 9) ГОСТ ISO 17372-2016 «Корма для животных. определение содержания зеараленона методами иммуноаффинной колоночной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии» [29];
- 10) ГОСТ ЕН 15850-2013 «Продукты пищевые. Определение зеараленона в продуктах для детского питания на кукурузной основе, ячменной, кукурузной и пшеничной муке, поленте и продуктах на зерновой основе для питания грудных детей и детей раннего возраста. Метод ВЭЖХ с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и флуориметрическим детектированием» [30];
- 11) МУ 5177-90 «Методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания дезоксиниваленола (вомитоксина) и зеараленона в зерне и зернопродуктах» [31];
- 12) ГОСТ ЕН 15891-2013 «Продукты пищевые. определение дезоксиниваленола в продовольственном зерне, продуктах его переработки и продуктах на зерновой основе для питания грудных детей и детей раннего возраста.

Метод ВЭЖХ с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и спектрофотометрического детектирования в ультрафиолетовой области спектра» [32];

13) ГОСТ Р 51116-97 «Комбикорма, зерно, продукты его переработки. Метод определения содержания дезоксиниваленола (вомитоксина)» [33];

14) ГОСТ ЕН 15835-2013 «Продукты пищевые. Определение охратоксина А в продуктах на зерновой основе для питания грудных детей и детей раннего возраста. Метод ВЭЖХ с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и флуориметрического детектирования» [34];

15) ГОСТ ISO 15141-2-2013 «Продукты пищевые. Определение содержания охратоксина А в зерне и зерновых продуктах. Часть 2. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с очисткой бикарбонатом» [35];

16) ГОСТ Р ЕН 15829-2011 Продукты пищевые. Определение охратоксина А в коринке, изюме, кишмише, смесях сушеных фруктов и инжире сушеном. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и детектирования по флюоресценции [36].

1.4 Вольтамперометрические методы анализа пищевых продуктов на содержания микотоксинов

Применяемые физико-химические метода для анализа пищевых продуктов имеют свои недостатки и преимущества. Например, оптические методы анализа требуют длительного времени, они трудоемки, используются дорогие реактивы, а для хроматографического анализа нужны дорогостоящие оборудования. Как уже отмечалось, в качестве альтернативы данным методам могут выступить ЭМА.

ЭМА основаны на процессах, которые протекают в анализируемом растворе на поверхности электрода или в приэлектродном пространстве под действием электрического тока. Аналитическим сигналом может служить любой электрический параметр, который зависит от концентрации анализируемого

раствора и поддается точному измерению. Измеряемый параметр определяет метод анализа и его название.

Как показали результаты обзора литературы, ЭМА переживают бурное развитие, среди них лидирующую позицию занимают методы ВА (рисунок 4).

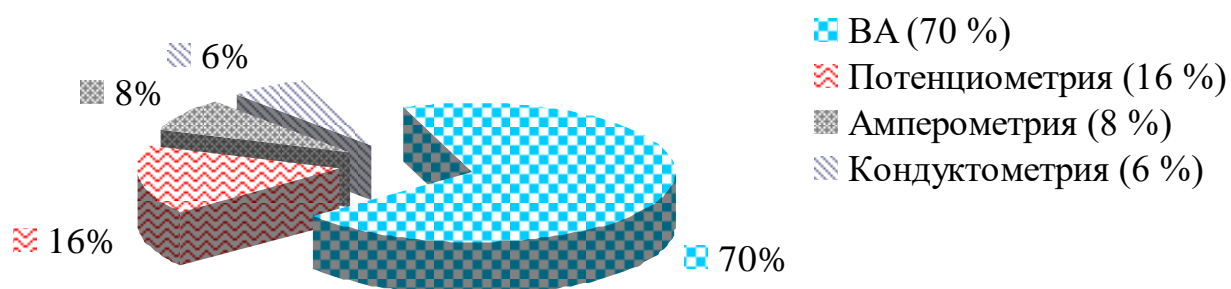


Рисунок 4 – Распределение публикаций по электрохимическим методам анализа

На сегодняшний день основная масса публикаций посвящена ВА-методам определения неорганических веществ, в частности металлам (рисунок 5). Однако за последние 5 лет наметилась тенденция роста публикаций по ВА-определению органических веществ, а именно определению ряда витаминов и антибиотиков в модельных растворах, биообъектах, фармпрепаратах, реже в пищевых продуктах и, к сожалению, практически нет работ по ВА- контролю органических веществ в пищевых продуктах.

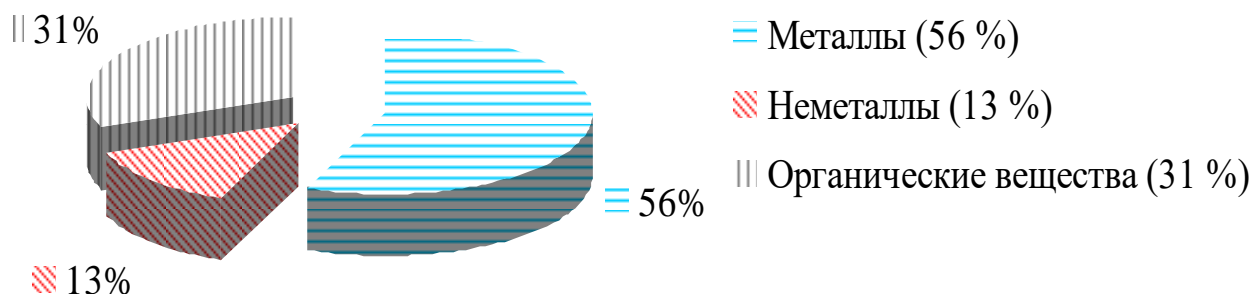


Рисунок 5 – Распределение публикаций по определяемым компонентам

Методы ВА являются высокочувствительными (сравнимы с ААС), быстрыми, универсальными, экономичными, имеют широкий диагностический спектр определения компонентов в различных объектах. Для реализации методов ВА используются химические реактивы, методики пробоподготовки. Методы автоматизированы, что обуславливает дешевизна проводимых исследований. Диагностические возможности методов ВА в объектах исследования пищевых продуктов на содержания афлатоксинов представляются весьма перспективными.

Так, например, в работе [8] описан способ определения афлатоксина В1 методом дифференциальной полярографии. Авторы для совместного определения афлатоксина В1 и G1 в качестве фонового электролита использовали раствор, где смесь 0,1 моль/дм³ (CH₃)₄NBr, 0,1 моль/дм³ LiCl и 40% CH₃OH. Потенциалы пиков полуволны афлатоксина В1 и G1 регистрировали при $E_{1/2}(\text{афл В1}) = (-1,33 \pm 0,02) \text{ В}$ и $E_{1/2}(\text{афл G1}) = (-1,25 \pm 0,02) \text{ В}$ относительно AgCl-анода.

В [9] описано определение афлатоксина В1 электрохимическим методом на стеклоуглеродном электроде, который модифицирован силикагель-ионной жидкостью с образованием биоплёнки в пыльце пчел. Авторы увеличили чувствительность сенсора использованием в качестве модификатора ионную жидкость гексафторфосфат 1-амил-2,3-диметилимидазолия. Сенсор давал линейный отклик в диапазоне 0,1-10 нг/мл афлатоксина В1, предел обнаружения 0,01 нг/мл. В отличие от классического сенсора на силикагеле, новый сенсор чувствительнее в 2 раза, устойчивее в 190 раз и определению не мешают типы афлатоксина В2, G1, G2, М1. Мера правильности 96,0-102,5%. Данный метод осложнен модификацией агента, что увеличивает время анализа.

В работе [10] методами дифференциальной импульсной вольтамперометрии описано определение афлатоксина В1 на графитовых печатных электродах, с иммобилизованными на поверхности иммунореагентами. Авторы в качестве метки использовали ферменты, обеспечивающие возникновение сигнала. Субстратом служил 1-нафтилфосфат, окисление которого в 1-нафтол, катализирует щелочную фосфатазу. Возникающий ток регистрировали методами дифференциальной импульсной вольтамперометрии. В этой работе графитовый

печатный электрод требует обновления и нанесения фермента, делая работу более трудоемкой, а также используются токсичные реагенты. В литературе вольтамперометрические методы определения микотоксинов применяются на различных углеродсодержащих электродах с различными модификаторами и фоновыми электролитами с различной рН.

ГЛАВА 2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Приборы, электроды, ячейки

Инверсионная вольтамперометрия, как высокочувствительный метод анализа, подразумевает использование приборов с высокой точностью. Требования к измерительной аппаратуре постоянно возрастают. Помимо точности измерений, анализаторы должны обладать соответствующими характеристиками, которые облегчают проведение анализа: простота и удобство эксплуатации, компактный размер и максимальная автоматизация обработки результатов.

В работе использованы комплексы аналитические вольтамперометрические «СТА» и «СТА – элемент» (г.Томск, ООО ИТМ) (рисунок 6).

Комплекс «СТА» (ТУ 4215-001-20694097-98) — это прибор, состоящий из электронного блока, измерительного блока с тремя электрохимическими ячейками в комплекте с IBM – совместимым компьютером с установленным пакетом программ «СТА». Прибор внесен в федеральный реестр средств измерений, прошедших государственные испытания № 17933-04. Сертификаты об утверждении типа измерений RU.C.31.113A № 37983 (Россия), KZ.02.03.03383-2010/17933-09 № 6206 (Казахстан), UA-MI/3-382-2002 № 000590 серия Д(Украина).

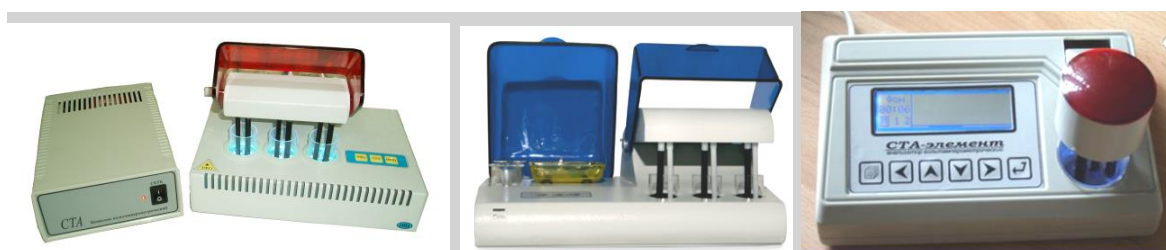


Рисунок 6— комплексы аналитические вольтамперометрические серии «СТА»

В анализаторе СТА имеются следующие режимы регистрации вольтамперограмм: накопительный и ступенчатый с производной функцией, которые позволяют выбрать наилучшие рабочие условия получения аналитических сигналов определяемых веществ.

Блок ячеек состоит из электродов (индикаторный, сравнения, вспомогательный), сменных стаканчиков из кварцевого стекла вместимостью 15-20 см³, трубка для подвода инертного газа и перемешивания раствора.

2.1.1 Электроды

Графитовый электрод (ГЭ) (рисунок 7, А) изготавливают из графитового стержня с диаметром рабочей поверхности 3-5 мм, который пропитан смесью парафина, полиэтилена и эпоксидной смолы.

Ртутно-пленочный электрод (РПЭ) (рисунок 7, Б) представляет собой фторопластовый стержень с запрессованной серебряной проволокой диаметром 2,0 мм и длиной 9-10 мм, площадь его поверхности около 15,0 мм². Подготовка электрода к работе осуществлена нанесением на поверхность серебра пленки ртути. Покрытие ртутью произведена погружением рабочей части электрода (серебряной проволоки) в металлическую ртуть на 2-3см, после этого ртуть растирали фильтровальной бумагой для равномерного её распределения по поверхности серебра. Полученный РПЭ хранили в бидистиллированной воде.

Стеклоуглеродный электрод (СУЭ) – стеклоуглеродный стержень с диаметром 1,5 – 2,0 мм, запрессован во фторопластовый держатель диаметром 5 – 6 мм таким образом, чтобы длина выступающей части стержня (рабочей поверхности) стеклоуглерода была 8 – 12 мм (рисунок 7, В).

Для подготовки СУЭ к работе он был обезжирен этиловым спиртом и промыт бидистиллированной водой

В качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода (рисунок 7, Г) был использован хлоридсеребряный электрод (ХСЭ) – электрод второго рода, представляющий собой серебряную проволоку в виде спирали, покрытую AgCl и погруженную в раствор KCl, с сопротивлением не более 3,0 кОм.

Контакт электродов с прибором осуществляли с помощью металлического токоотвода и стандартного разъема.



А

Б

В

Г

Рисунок 7– Типы электродов: А – ГЭ, Б – РПЭ, В – СУЭ, Г–ХСЭ

2.1.2 Стандартные образцы и аттестованные смеси

ГСО 7937-2001 (П-10) состава раствора патулина в смеси бензола и ацетонитрила предназначен для градуировки средств измерений при определении микотоксина в продуктах питания, кормах и продовольственном сырье.

Основной раствор, содержащие $100,0 \text{ мг/дм}^3$, патулина готовили из ГСО патулина в смеси бензола и ацетонитрила.

Рабочие растворы – аттестованные смеси (АС) получены последовательным разбавлением основного раствора соответствующими растворителями сразу перед экспериментом.

Электрохимическая ячейка должна включать, по крайней мере, два электрода, чтобы можно было пропускать через исследуемую систему постоянный ток или измерять потенциал электродов. В зависимости от характера решаемых задач в ряде случаев применяется трехэлектродная ячейка.

В работе использовали двухэлектродную ячейку со сменными кварцевыми стаканчиками.

В качестве материала индикаторного электрода был использован модифицированный графитовый электрод. Эти электроды обладают высокой твердостью, высокой химической устойчивостью в сильно кислых и щелочных растворах.

Рабочей поверхностью электрода являлся графит, присутствие свободных электронов придает проводимости графита металлический характер. Электродом сравнения служил насыщенный хлорид серебряный электрод (нас. х.с.э.).

Определения pH раствора проводились с использованием переносного pH-метра-милливольтамперметра, pH-673 обычным способом. Погрешность в определении pH раствора не превышала величину $\pm 0,1$ %.

2.2 Приготовление растворов. очистка посуды

При проведении эксперимента в методе ИВА основными источниками загрязнения могут быть: используемая вода, применяемые реактивы, многокомпонентный воздух в лаборатории, посуда, следовые количества растворенного кислорода.

Фоновые растворы готовили из дистиллированной воды и соли натрия фосфорнокислого двузамещенного ОС.Ч.

Все растворы готовились в мерных колбах с притертыми пробками, были использованы одноканальные дозаторы переменного объема фирмы «Ленпипет» (погрешность не более 5% (отн.).

Перед использованием посуду сначала промывали содой, затем ополаскивали дистиллированной водой.

Кварцевые стаканчики перед экспериментом протерты сухой содой при помощи фильтровальной бумаги, тщательно ополаскивают сначала водопроводной, затем бидистиллированной водой. Затем в каждый стаканчик добавляют по 0,1-0,2 см³ концентрированной серной кислоты, стаканчики помещают в комплекс пробоподготовки «Темос-Экспресс» (при открытой крышке) при температуре 300-350 С⁰. После полного прекращения выделения паров серной кислоты со стенок стаканчиков их прокаливают при температуре 500-600 С⁰ в течение 15 минут при закрытой крышке.

Подготовленные к эксперименту стаканчики проверяли на чистоту следующим образом: наливали в них фоновый электролит и снимали

вольтамперограммы в режиме эксперимента. При отсутствии пиков на вольтамперограмме, стаканчики считались чистыми. Чтобы проверить чистоту другой лабораторной посуды, которая использовалась в опыте, в нее наливали фоновый раствор, хорошо встряхивали его и переливали в чистый кварцевый стаканчик. После проводили электролиз и регистрировали вольтамперные кривые.

2.3 Методика проведения эксперимента

Вольтамперометрические измерения проводили на индикаторных углеродсодержащих электродах: графитовом (полиэтиленом с парафином в вакууме), стеклоуглеродном (СУЭ) и углеситаловом, и также на модифицированном ртутью СУЭ; электрод сравнения-насыщенный хлоридсеребряный.

Вначале получали вольтамперограмму фонового электролита, далее при постепенном добавлении патулина в раствор регистрировали его аналитический сигнал с показаниями высоты и потенциала пика.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Вольтамперометрическое определение патулина

3.1.1 Исследование вольтамперометрического поведения патулина на стеклоуглеродном электроде

Патулин хорошо растворяется в ацетоне, хлороформе, дихлорметане, диметилсульфоксиде, этаноле, изопропанолем, но не растворим в эфире. В бензоле и хлороформе патулин сохраняется в темноте в течение нескольких лет. В качестве растворителя нами выбран этанол, который обладает высокой полярностью, доступностью и низкой рыночной стоимостью.

Использование углеродных электродов различного типа обусловлено их высокой химической и электрохимической устойчивостью, широкой областью рабочих потенциалов, простотой механического обновления поверхности, а также отсутствием токсичной ртути.

В качестве рабочего электрода выбран стеклоуглеродный, так как имеет наибольшую величину сигнала, меньший остаточный ток и хорошую воспроизводимость сигналов на вольтамперограмме.

Аналитический сигнал патулин получен на следующих фонах: 0,1 М Na_2HPO_4 , 0,1 М $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и универсальной буферной смеси Бриттона-Робинсона. На рисунке 8 приведена вольтамперограмма патулина, полученная на фоновом электролите 0,1 М Na_2HPO_4 .

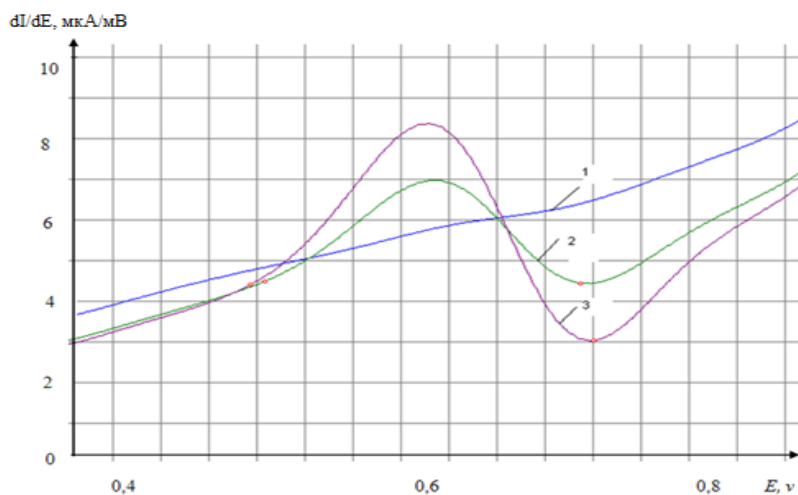


Рисунок 8 - Вольтамперограмма электроокисления патулина.

ИЭ– СУЭ, фоновый электролит 0,1 М Na_2HPO_4 :

1 – фон;

2 – проба $c_{\text{пат}}=0,005$ мг/дм³;

3 – добавка $c_{\text{пат}}=0,01$ мг/дм³

Как видно из рисунка 8 на вольтамперограмме, при потенциале $E_{\text{п}} = 0,641 \text{ В}$, наблюдается хорошо выраженный пик, который при введении добавки аттестованной смеси патулина увеличивается пропорционально введенной концентрации, что говорит о возможности его количественной оценки.

Лучшим фоновым электролитом является $0,1 \text{ М Na}_2\text{HPO}_4$, получается чувствительный сигнал, и регистрируются хорошо воспроизводимые пики электроокисления и сохраняется линейная зависимость градуировочных графиков в широком диапазоне концентраций (рисунок 9).

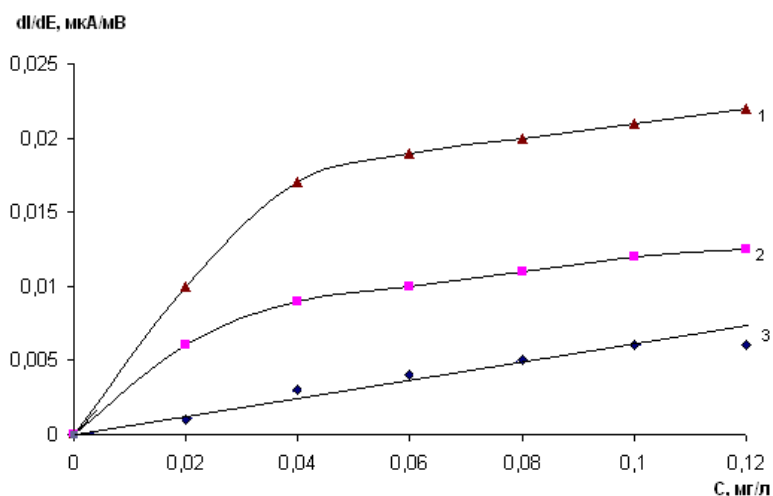


Рисунок 9- Градуировочные зависимости электроокисления патулина на различных фоновых электролитах, полученные на СУЭ: 1 – $0,1 \text{ М Na}_2\text{HPO}_4$, 2 – универсальная буферная смесь Бриттона-Робинсона (pH 5,33), 3- $0,1 \text{ М (NH}_4)_2\text{SO}_4$.

В диапазоне малых концентраций (до $0,015 \text{ мг/дм}^3$) перспективнее использовать в качестве фонового электролита $0,1 \text{ М Na}_2\text{HPO}_4$.

Известно, в водных растворах органические соединения находятся в катионной, нейтральной или анионной формах. Механизм и скорость протекания электродного процесса при вольтамперометрическом определении патулина в сильной степени зависит от pH и поэтому проводили исследования влияния pH среды на сигнал патулина. Зависимость потенциала пика электроокисления патулина представлена на рисунке 10.

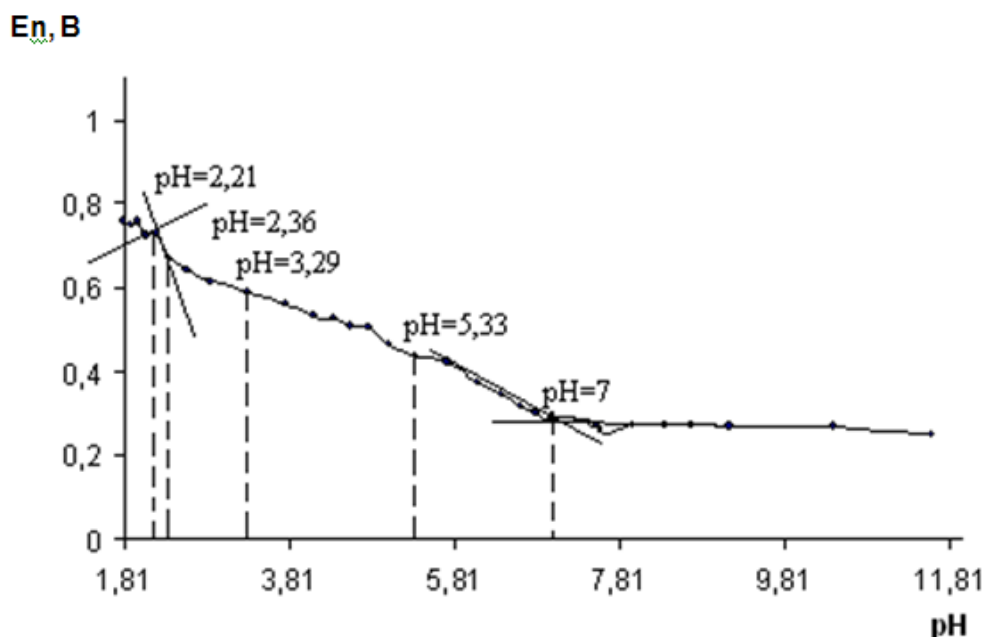


Рисунок 10 - Зависимость потенциала пика электроокисления патулина от pH среды на СУЭ, $c_{\text{пат}}=0,005$ мг/дм³, $\tau_3=30$ с; $w=30$ мВ/с; фон $-0,1$ М Na_2HPO_4

Из рисунка 10 следует, что с увеличением концентрации гидроксид-ионов происходит смещение потенциала пика в катодную область, то есть способствует облегчению процесса электроокисления патулина, что, по-видимому, связано с протеканием ступенчатой реакции депротонизации различных форм патулина, которая может предшествовать стадии отдачи электрона от молекулы деполяризатора к электроду или вовсе протекать с ней одновременно.

По мере повышения pH фонового электролита изменяется форма нахождения вещества в растворе, определяемая протолитическим равновесием. На отрыв электрона от нейтральной частицы требуется меньше энергии, чем от катионной, поэтому потенциал пика патулина в нейтральной среде, ниже, чем в кислой. Значения pH в точках пересечения продолжений прямолинейных участков экспериментальной зависимости потенциала пика от pH соответствует величинам эффективных констант диссоциации $pK_1=2,21$ и $pK_2=7,0$.

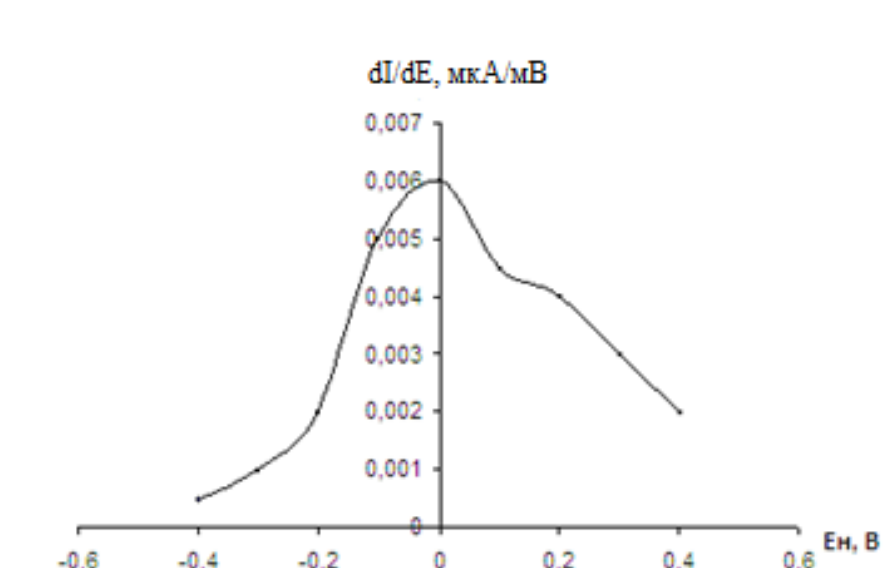


Рисунок 11 – Зависимость величины тока восстановления патулина от потенциала предварительного электролиза, фон- 0,1 М Na_2HPO_4 . $C=0,0015 \text{ мг/дм}^3$, $w = 30 \text{ мВ/с}$, $\tau_3=30 \text{ с}$, $E_{\text{П}}=(0,64\pm0,05) \text{ В}$.

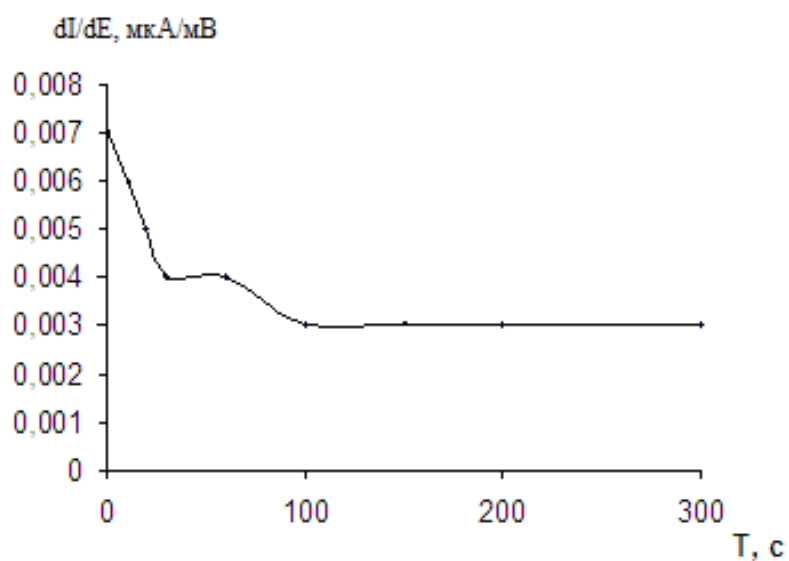


Рисунок 12 – зависимость величины тока пика патулина от времени предварительного электролиза, фон- 0,1 М Na_2HPO_4 . $C=5\cdot 10^{-3} \text{ мг/дм}^3$, $w = 30 \text{ мВ/с}$, $E_{\text{П}}=(0, 0,64\pm0,05) \text{ В}$.

Таким образом, на основании полученных результатов предложены рабочие условия для вольтамперометрического измерения патулина представленные в таблице 1.

Таблица 1. Рабочие условия вольтамперометрического определения патулина

Параметры измерения	Значения параметров
Фоновый электролит	0,1 М Na ₂ HPO ₄
Используемая система	3-х электродная
Электроды: <ul style="list-style-type: none"> •индикаторный •вспомогательный •сравнения 	СУЭ ХСЭ ХСЭ
Диапазон развёртки потенциалов, В	0,0..... +1,1
Скорость линейного изменения потенциала, мВ/с	30
Потенциал пика, В	0,64 ± 0,05
Поляризующее напряжение для электронакопления, В	0,0

3.2 Разработка вольтамперометрической методики определения патулина в фруктовых соках и нектарах.

На основе проведённых исследований нами проведена разработка вольтамперометрической методики выполнения измерения патулина и на примере модельных растворов и проведена проверка правильности предлагаемой методики методом «введено-найдено». Модельный раствор состоял из дистиллированной воды с различной добавкой стандартного раствора патулина. Результаты проверки правильности приведены в таблице 2.

Таблица 2. Проверка правильности методом «введено-найдено»

Образец	Содержание патулина, мг/дм ³		
	Проба	Введено	Найдено
Модельный раствор №1	0,019±0,002	0,02	0,039±0,003
Модельный раствор №2	0,015±0,004	0,04	0,055±0,004

На основе полученных данных по электрохимическому поведению патулина разработан алгоритм методики количественного его определения для осуществления эффективного контроля за обнаружением минимально допустимых количеств его в фруктовых соках и нектаре. Алгоритм этой методики включают следующие стадии:

1. Взятие навески пробы.
2. Кислотный гидролиз с HCl конц. и центрифугирование.
3. Фильтрование полученного осадка.
4. Количественное определение содержания патулина с помощью метода дифференциальной вольтамперометрии.

Проверка правильности предлагаемой методики проведена методом «введено-найдено» (таблица 3).

Таблица 3. Проверка правильности вольтамперометрической методики определения содержания патулина в пробах фруктовых соках и нектаре методом «введено-найдено», ($p = 0,95$, $n = 5$).

Объект	Содержание патулина, мкг/дм ³		
	В пробе	Введено	Найдено
Апельсиновый сок (производитель компания «Прогресс»)	2,79±0,41	2,00	4,81±0,72
Яблочный сок (производитель Вимм-Билль-Данн)	1,94±0,35	2,00	3,95±0,65
Абрикосовый нектар (производитель АО«Данон Россия»)	3,92±0,58	4,00	7,85±1,12

Данные таблицы 3 показывают, что вольтамперометрическое определение патулина возможно проводить с погрешностью измерений 15-20% в диапазоне концентраций $2 \cdot 10^{-3} \div 2 \cdot 10^{-1}$ мг/дм³.

Предложенный метод прост, не требует большого количества реактивов и трудозатрат. Диапазон определяемых концентраций от 0,001 до 10,00 мг/дм³. Относительное стандартное отклонение (Sr) не более 30%.

ГЛАВА 4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ

В наши дни перспективность научного исследования определяется коммерческой и практической ценностью разработки. При поиске источников финансирования для проведения научного исследования и коммерциализации его результатов необходимо оценить коммерческий потенциал разработки.

Коммерческая привлекательность научного исследования определяется следующими критериями: будет ли продукт востребован на рынке, какова будет его стоимость, чтобы удовлетворить потребителя, каков бюджет научного проекта, сколько времени потребуется для выхода на рынок и т.д.

Коммерческая состоятельность как заключительный этап прединвестиционных исследований базируется на информации, полученной и проанализированной на всех предшествующих этапах работы. Общие критерии коммерческой привлекательности работы кратко можно обозначить как финансовую состоятельность проекта (финансовая оценка) и эффективность инвестиций (экономическая оценка). Первый используется для анализа ликвидности в ходе его реализации; во втором присутствует потенциальная способность проекта сохранять покупательскую ценность вложенных средств и обеспечивать темп их прироста.

Таким образом, целью раздела «финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» является определение перспективности и успешности научно-исследовательского проекта, разработка механизма управления и сопровождения конкретных проектных решений на этапе реализации.

4.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Для анализа потребителей результатов научного исследования необходимо подвергнуть рассмотрению целевой рынок и провести его сегментирование.

Целевой рынок – сегменты рынка, на котором в будущем будут продаваться разработки. В свою очередь, сегмент рынка – это особым образом выделенная часть рынка, группы потребителей, обладающих определенными общими признаками.

Сегментирование – это разделение покупателей на однородные группы, для каждой из которых может потребоваться определенный товар или услуга.

Целевым рынком для внедрения разрабатываемой методики определения патулина во фруктовых соках и нектарах является пищевая промышленность, в особенности производители фруктовых соков, а также контрольно-аналитические лаборатории, контролирующие качество пищевой продукции инстанций.

Главными потребителями разрабатываемой методики могут стать производители детских фруктовых соков и нектаров, использующие сложные этапы работы и длительный анализ проб при определении микотоксинов, в нашем случае патулина. Применяя данную методику на производстве, производители в разы сокращают время, затрачиваемое на определения микотоксинов, тем самым сокращая время анализа в целом и повышая эффективность своего производства.

Таким образом, проведено сегментирование потребителей разработки. Выделен наиболее крупный сегмент рынка: производители пищевой продукции, а именно переработки фруктов.

4.1.1 Диаграмма Исикавы

Диаграмма причины-следствия Исикавы (Cause-and-Effect-Diagram) - это графический метод анализа и формирования причинно-следственных связей, инструментальное средство для систематического определения причин проблемы и последующего графического представления.

Область применения диаграммы:

Выявление причин возникновения проблемы;

Анализ и структурирование процессов на предприятии;

Оценка причинно-следственных связей.

Общий вид диаграммы Исикавы представлен на рисунке 13.



Рисунок 13 - Общий вид диаграммы Исикавы

Построение диаграммы начинают с формулировки проблемной области/темы, которая является объектом анализа и наносится на центральную горизонтальную стрелку диаграммы.

4.1.2 Оценка готовности проекта к коммерциализации

Следующим этапом необходимо провести оценку проекта к коммерциализации с использованием таблицы, в которой содержатся показатели о степени проработанности проекта с позиции коммерциализации и компетенциям разработчика научного проекта. Коммерциализация – процесс экономической (рыночной) реализации на практике результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ. В данном процессе активно взаимодействуют разные стороны – разработчики, инвесторы, а также сопровождающие и обслуживающие непосредственно данный процесс участники. Перечень вопросов приведен в таблице 4.

Таблица 4 Бланк оценки степени готовности научного проекта к коммерциализации

№ п/п	Наименование	Степень проработанности научного проекта	Уровень имеющихся знаний у разработчика
1.	Определен имеющийся научно-технический задел	3	4
2.	Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического задела	4	4
3.	Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке	4	4
4.	Определена товарная форма научно-технического задела для представления на рынок	3	3
5.	Определены авторы и осуществлена охрана их прав	4	5
6.	Проведена оценка стоимости интеллектуальной собственности	4	4
7.	Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта	3	3
8.	Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки	5	5
9.	Определены пути продвижения научной разработки на рынок	4	3
10.	Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки	3	3
11.	Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок	2	2
12.	Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот	2	2
13.	Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной разработки	3	2
14.	Имеется команда для коммерциализации научной разработки	3	3
15.	Проработан механизм реализации научного проекта	3	2
	Итого баллов	50	49

Оценка готовности научного проекта к коммерциализации (или уровень имеющихся знаний у разработчика) определяется по формуле:

$B_{\text{сум}} = \sum B_i$, где $B_{\text{сум}}$ – суммарное количество баллов по каждому направлению; B_i – балл по i -му показателю.

На основании проведенных расчетов можно сделать заключение о перспективности проекта выше среднего (от 45 до 59). Проведение дополнительных маркетинговых исследований рынков сбыта позволило увеличить перспективность проекта, поэтому необходимо увеличение объемов финансирования проекта.

4.1.3 Метод коммерциализации результатов научно-технического исследования

Коммерциализация – это процесс преобразования знаний в продукт, услугу или деятельность, которая может быть использована в целях получения прибыли. Коммерциализация в науке – это практическое использование научных изысканий и разработок в производстве товаров или предоставлении услуг, с тем, чтобы эти товары или услуги, можно было продать с максимальным коммерческим эффектом.

Основной целью коммерциализации проекта является внедрение результатов НИОКР с последующим получением финансовых и прочих материальных ценностей, которые в дальнейшем можно использовать для развития исследований (закупка оборудования, реактивов; наем высококвалифицированного узкоспециализированного персонала), либо для формирования накоплений. Прибыль может быть единоразовой, либо регулярной.

Важно правильно определить методы коммерциализации результатов научно-технического исследования, проведенного в рамках диссертации, для получения максимальных выгод. Для понимания методологии выбора необходимо понимать возможные варианты коммерциализации. А именно:

- Торговля патентными лицензиями;
- Передача ноу-хау;
- Инжиниринг;
- Фрайчайзинг;
- Организация собственного предприятия;
- Организация совместных предприятий.

Наиболее перспективными методами коммерциализации для полученных результатов научно-технической деятельности являются: инжиниринг, торговля патентными лицензиями.

Инжиниринг предполагает предоставление на основе договора одной стороной, именуемой консультантом, другой стороне, именуемой заказчиком, комплекса или отдельных видов инженерно-технических услуг, связанных с проектированием, строительством и вводом объекта в эксплуатацию, с разработкой новых технологических процессов на предприятии заказчика, усовершенствованием имеющихся производственных процессов вплоть до внедрения изделия в производство и даже сбыта продукции. По результатам научно-технической работы разработана методика вольтамперометрического определения патулина во фруктовых соках и нектарах. После защиты результатов патентным правом, и прохождения процедуры аттестации методики, планируется предоставление методики для коммерческой продажи совместно с оборудованием для проведения анализов.

Для компаний, у которых имеется оборудование другой фирмы (не требуется оборудование) предусматриваем продажу патентных лицензий на использование разработанной методики.

4.2 Инициация проекта

Группа процессов инициации состоит из процессов, которые выполняются для определения нового проекта или новой фазы существующего. В рамках процессов инициации определяются изначальные цели и содержание и фиксируются изначальные финансовые ресурсы. Определяются внутренние и внешние заинтересованные стороны проекта, которые будут взаимодействовать, и влиять на общий результат научного проекта. Данная информация закрепляется в уставе проекта.

Устав проекта документирует бизнес - потребности, текущее понимание потребностей заказчика проекта, а также новый продукт, услугу или результат, который планируется создать.

Устав научного проекта магистерской работы имеет следующую структуру:

1. Цели и результат проекта.

Информация по заинтересованным сторонам проекта представлена в таблице 4.1

Таблица 4.1. Заинтересованные стороны проекта

Заинтересованные стороны проекта	Ожидание заинтересованных сторон проекта
Министерство науки и образования РФ	<ul style="list-style-type: none"> - оформление патентов; - разработка методики количественного определения; - доклады на конференциях разного уровня; - публикация статей в журналах с высоким Impact Factor.

В таблице 4.2 представлена информация об иерархии целей проекта и критериях достижения целей.

Таблица 4.2. Цели и результат проекта

Цели проекта	Разработать методику вольтамперометрического определения патулина во фруктовых соках и нектарах
Ожидаемые результаты проекта:	Обосновать возможность использования полученных в ходе исследований данных для определения патулина в изучаемых объектах с удовлетворительными метрологическими характеристиками
Критерии приемки результата проекта:	Результат должен технологически, экономически и экологически обоснован
Требования к результату проекта:	<p>1) проблема проекта должна быть актуальной, имеющей технологическое, экономическое и экологическое значение.</p> <p>2) установить вещественный состав и технологические свойства основного w-содержащего техногенного образования.</p>

2.Организационная структура проекта

Необходимо определить участников рабочей группы, определить роль каждого участника в проекте, а также прописать функции каждого участника проекта и определить трудозатраты. Организационная структура проекта представлена в таблице 4.3

Таблица 4.3. Рабочая группа проекта

№ п/п	ФИО, основное место работы, должность	Роль в проекте	Функции	Трудо- затрат, час.
1	Слепченко Г.Б.	руководитель проекта	Отвечает за реализацию проекта, координирует деятельность участников проекта, обеспечивает снабжение необходимыми материалами для работы, организует рабочее место; консультирует по отдельным видам работ	420
2	Якимова Т.Б.	эксперт	Консультирует по вопросам финансового менеджмента, ресурсоэффективности и ресурсосбережения	2
3	Горбенко М.В.	эксперт	Консультирует по вопросам безопасности жизнедеятельности	2
4	Устюжанина А.К.	эксперт	Консультирует по части английского языка	2
5	Хусаинова А.Ф.	исполнитель	Выполняет отдельные работы по проекту	2406
Итого:				2832

3. Ограничения и допущения по проекту

Ограничения проекта – это все факторы, которые могут послужить ограничением степени свободы участников команды проекта, а также «границы проекта» - параметры проекта или его продукта, которые не будут реализованных в рамках данного проекта. данные представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4. Ограничения проекта

Фактор	Ограничения/ допущения
3.1. Бюджет проекта, руб.	734897,42
3.1.1. Источник финансирования	Министерство образования и науки РФ
3.2. Сроки проекта:	01.09.2018 г. – 31.08.2020 г.
3.2.1. Дата утверждения плана управления проектом	01.01.2019 г.

4.3 Планирование управления научно-техническим проектом

Группа процессов планирования состоит из процессов, осуществляемых для определения общего содержания работ, уточнения целей и разработки последовательности действий, требуемых для достижения данных целей. План управления включает в себя следующие элементы:

4.3.1 Иерархическая структура работ проекта

Иерархическая структура работ (ИСР) – детализация укрупненной структуры работ. В процессе создания ИСР структурируется и определяется содержание всего проекта. На рисунке 14 представлен шаблон иерархической структуры работ по проекту.



Рисунок 14 – Иерархическая структура работ проекта

4.3.2 Контрольные события проекта

В рамках данного раздела необходимо определить ключевые события проекта, определить их даты и результаты, которые должны быть получены по состоянию на эти даты. Контрольные события проекта обозначены в таблице 4.5.

Таблица 4.5. Контрольные события проекта

№ п/п	Контрольное событие	Дата	Результат (подтверждающий документ)
1	Анализ литературных данных	Сентябрь - Октябрь, 2018 г.	Литературный обзор в ВКР
2	Постановка цели и задач	Ноябрь, 2018 г.	Раздел цели и задачи в ВКР
3	Разработка плана экспериментальных работ	Ноябрь, 2018 г.	План работ
4	Воспроизведение уже известных вольтамперометрических методик определения патулина; разработка методики на модельных растворах	Декабрь 2018 – Апрель 2019 г.	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
5	Изучение зависимостей аналитического сигнала патулина на модифицированных электродах	Май - Октябрь, 2019 г.	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
6	Разработка методики пробоподготовки исследуемых объектов (соки и нектары) для дальнейшего вольтамперометрического определения	Ноябрь 2019 – Январь 2020 г.	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
7	Апробация разработанной методики определения патулина на реальных образцах, метрологическая оценка разработанного метода	Январь - Февраль, 2020 г.	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
8	Обсуждение результатов доработка экспериментальной части ВКР	Март, 2020 г.	Результаты экспериментов,
9	Оформление ВКР	Апрель - Июнь, 2020 г.	Результаты экспериментов, представленных в ВКР

4.3.3 План проекта

В рамках планирования научного проекта построен календарный и линейный графики проекта. Линейный график представлен в виде таблицы (таблица 4.6).

Таблица 4.6. Календарный план проекта

Код работы	Название	Длительность, дни	Дата начала работ	Дата окончания работ	Состав участников (ФИО ответственных исполнителей)
1	Анализ литературных данных	80	01.09.18	20.11.18	Хусаинова А.Ф.
2	Постановка целей и задач	3	10.11.18	13.11.18	Хусаинова А.Ф., Слепченко Г.Б.
3	Разработка плана экспериментальных работ	4	18.11.18	22.11.18	Слепченко Г.Б., Хусаинова А.Ф.
4	Воспроизведение методик определения патулина	134	14.11.18	2.04.2019	Хусаинова А.Ф.
5	Изучение зависимостей аналитического сигнала патулина на модифицированных электродах	70	3.04.19	25.09.19	Хусаинова А.Ф.
6	Разработка методики пробоподготовки исследуемых объектов (соков и нектаров) для дальнейшего вольтамперометрического определения	60	1.10.19	31.12.20	Хусаинова А.Ф.
7	Апробация разработанной методики определения патулина на реальных образцах, метрологическая оценка разработанного	44	14.01.20	1.03.20	Слепченко Г.Б., Хусаинова А.Ф.
8	Обсуждение результатов Доработка экспериментальной части	34	1.03.20	05.04.20	Слепченко Г.Б., Хусаинова А.Ф.
9	Оформление ВКР	60	1.04.20	2.06.20	Хусаинова А.Ф.
Итого, дней		489			

Диаграмма Ганта – это тип столбчатых диаграмм (гистограмм), который используется для иллюстрации календарного плана проекта, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ. График приведен в таблице 4.7.

Таблица 4.7. Календарный план-график проведения НИОКР по теме с сентября 2018 по июнь 2020

№ работ ы	Вид работы	Состав участник ов	Т, ка л. дн.	Продолжительность выполнения работ																			
				сентябр ь		октябр ь		ноябр ь		декабр ь		январ ь		феврал ь		мар т		апрел ь		май		июнь	
				1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	Анализ литературных данных	Дипломник	80																				
2	Постановка целей и задач	Науч. Рук., дипломник	3																				
3	Разработка плана экспериментальных работ	Науч. Рук, дипломник	4																				
4	Воспроизведение методик определения патулина	дипломник	134																				
5	Изучение зависимостей аналитического сигнала патулина на модифицированных электродах	дипломник	70																				

[illegible]

На основании календарного плана установлена трудозатратность для каждого участника проекта, в календарных днях: для руководителя – 85 дней, для исполнителя 489 дня; в пересчете на рабочие дни: для руководителя – 70 дней, для дипломника – 401 дня.

4.3.4 Бюджет научно-технического исследования (НТИ)

Бюджет затрат на выполнение НИР составлялся с учетом проведения НИР за один год (365 дней). Затраты на НИР рассчитывали по статьям калькуляции, которые включают две группы затрат прямые затраты и накладные затраты.

Расчет материальных затрат научно-технического исследования

Данная статья включает стоимость всех материалов, используемых при разработке проекта:

- приобретаемые со стороны сырье и материалы, необходимые для создания научно-технической продукции;
- покупные материалы, используемые в процессе создания научно-технической продукции для обеспечения нормального технологического процесса.

Все затраты на оборудование, реактивы, лабораторную посуду и средства защиты приведены в таблицах 4.8. -4.9.

Стоимость оборудования, используемого при выполнении конкретного научного проекта и имеющегося в данной научно-технической организации, учитывается в виде амортизационных отчислений. Все расчеты по приобретению спецоборудования и оборудования, имеющегося в организации, но используемого для выполнения конкретной темы.

Таблица 4.8. Материальные затраты на оборудование

Наименование	Кол-во, шт	Стоимость с НДС, руб/шт	Сумма, руб	Срок эксплуатации, лет руб/шт	Амортизация, руб
Весы аналитические	1	78740,00	78740,00	12	6561,66
Комплекс вольтамперометрический стационарный	1	156000,00	156000,00	8	19500,00
Итого: 234740,00					

Таблица 4.9. Материальные затраты на реактивы

Наименование	Кол-во	Стоимость с НДС	Сумма, руб
Стандарт патулина	1 амп.	8516,00	8516,00
Перхлорат аммония	0,1 кг	1235,00 (кг)	123,50
Вода бидистиллированная	1 л	65,0 (5 л)	13,00
Модифицирующий раствор золота	1 амп (5мл)	870,00	870,00
Модификатор соли	0,01 кг	500,00(кг)	5,00
Серная кислота	0,01 л	120,00(л)	1,20
Калия хлорид	0,500 кг	100,00 (кг)	50,00
Итого:			9578,70

Таблица 4.9.1 – Материальные затраты на лабораторную посуду

Наименование	Количество, шт	Стоимость с НДС, руб/шт	Сумма, руб
Колбы различных объемов стеклянные	4	1 л – 210,00 – 1 шт	430,00
		50 мл – 100,0 – 2 шт	
		100 мл – 120,00 - 1 шт	
Пробирки типа Эппендорф	20	519,00 (500 шт)	20,76
Дозатор одноканальный 20 мкл	1	4000,00	4000,00
Фильтровальная бумага	1 уп	150,00	150,00
Кювета кварцевая	3 шт	490,00	1470,00
Стеклоуглеродные электроды	3 шт	850,00	2550,00
Хлоридсеребрянные электроды	6 шт	800,00	4800,00
Азот в баллонах	1 баллон	4500,00	4500,00
Итого:			17920,76

Таблица 4.9.2. Материальные затраты на средства защиты

Наименование	Количество, шт	Стоимость с НДС, руб/шт	Сумма, руб
Халат	1	1500,00	1500,00
Перчатки	2	100,00	200,00
Итого:			1700,00

Таблица 4.9.3. – Общие материальные затраты на научно-технические исследования

Вид затрат	Сумма, руб
Материальные затраты на реактивы	9578,70
Материальные затраты на лабораторную посуду	17920,76
Материальные затраты на средства защиты	1700,00
Материальные затраты на оборудование	234740,00
Итого:	263939,49

Основная заработная плата исполнителей темы

Величина расходов по заработной плате определяется исходя из трудоемкости выполняемых работ и действующей системы оплаты труда. Статья включает основную заработную плату работников, непосредственно занятых выполнением проекта (включая премии, доплаты) и дополнительную заработную плату.

Основная заработная плата (Зосн) рассчитывается по следующей формуле:

$Зосн = Здн * Траб$, где $Тр$ – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн., $Здн$ – среднедневная заработная плата работника, руб. Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$Здн = Зм * М / Фд$, где $Зм$ – месячный должностной оклад работника, руб., $М$ – количество месяцев работы без отпуска в течение года: при отпуске в 48 раб. дней $М=10,4$ месяца, 6-дневная неделя, $Фд$ – действительный годовой фонд рабочего времени научно - технического персонала, раб. дн.

На выполнение НИР понадобилось 401 рабочих дней. Баланс рабочего времени исполнителей представлен в таблице 4.9.4.

Таблица 4.9.4. Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Инженер (дипломник)
Календарное число дней	365	365
Количество нерабочих дней	58	62
- выходные дни	44	48
- праздничные дни	14	14
Потери рабочего времени	56	28
- отпуск	56	28
- невыходы по болезни	-	-
Действительный годовой фонд рабочего времени	251	275

Месячный должностной оклад работника рассчитывался по формуле:

$Z_m = Z_b \cdot (k_{пр} + k_d) \cdot k_r$, где Z_b – базовый оклад, руб.; $k_{пр}$ – премиальный коэффициент (определяется положением об оплате труда); k_d – коэффициент доплат и надбавок (определяется положением об оплате труда); k_r – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

При расчете заработной платы научно – производственного и прочего персонала проекта учитывались месячные должностные оклады работников, которые рассчитывались по формуле:

Согласно информации сайта томского политехнического университета должностной оклад (ППС) профессора в 2020 году без учета РК составил 49150,00 руб., исполнителя (магистранта) – 12130,00 руб. Расчет основной заработной платы приведен в табл. 4.9.4.

Таблица 4.9.5. Расчёт основной заработной платы

Исполнители	Z_b , руб.	$k_{пр}$	k_d	k_r	Z_m , руб.	$Z_{дн}$, руб.	Тр, раб. дн.	$Z_{осн}$, руб.
Руководитель	49150,00	-	-	1,3	63895,00	2647,40	70	185318,00
Инженер-дипломник	12130,00	-	-	1,3	15769,00	596,35	401	239136,35

Дополнительная заработная плата научно-производственного персонала

В данную статью включается сумма выплат, предусмотренных законодательством о труде, например, оплата очередных и дополнительных отпусков; оплата времени, связанного с выполнением государственных и общественных обязанностей; выплата вознаграждения за выслугу лет и т.п.

Дополнительная заработная плата рассчитывается исходя из 10-15% от основной заработной платы работников, непосредственно участвующих в выполнении НИР:

$З_{доп} = к_{доп} * З_{осн}$, где $З_{доп}$ – дополнительная заработная плата, руб., $к_{доп}$ – коэффициент дополнительной зарплаты. В табл. 4.9.6 приведена форма расчёта основной и дополнительной заработной платы.

Таблица 4.9.6. - Заработная плата исполнителей НТИ

Заработная плата	Руководитель	Инженер (дипломник)
Основная зарплата	185318,00	239136,35
Дополнительная зарплата	22238,16	28696, 36
Итого по статье СЗП	207556,16	267832,71

Отчисления на социальные нужды

Отчисления на социальные нужды составляет 30,2 % от суммы заработной платы всех сотрудников. Затраты по данной статье рассчитаны по формуле:

$З_{о.с.н.} = 0,302 * З_{осн.}$, где $З_{о.с.н.}$ – затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

Для руководителя – 55966,04, для исполнителя – 72219,18.

Накладные расходы

В эту статью включены затраты на управление и хозяйственное обслуживание, которые могут быть отнесены непосредственно на конкретную тему. Расчет накладных расходов провели по следующей формуле:

$С_{накл} = К_{накл} * (З_{осн} + З_{доп})$, где $К_{накл}$ – коэффициент накладных расходов равный 16%. $С_{накл} = 76062,21$ руб.

Затраты на проведение НИР

На основании полученных данных по отдельным статьям затрат составляется калькуляция плановой себестоимости НИР. В проекте не предусмотрены затраты, связанные с выплатой дополнительной заработной платы научно – производственного и прочего персонала проекта, научными и производственными командировками, оплатой работ, выполняемых другими организациями и предприятиями. Смета затрат приведена в таблице 4.9.7.

Таблица 4.9.7. – Смета затрат на выполнение НИР

Статьи затрат	Затраты, руб.
Сырье и материалы	29199,46
Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ (амортизация)	26061,66
Фонд заработной платы	475388,87
Отчисления на социальные нужды	128185,22
Накладные расходы	76062,21
Итого	734897,42

Анализ сметы затрат на выполнение научно – исследовательской работы показал, что существующий вариант решения, поставленный в магистерской диссертации, с позиции финансовой и ресурсной эффективности является наиболее приемлемым в сравнении с существующими методами (например, хроматографическими).

4.3.5 Организационная структура проекта

В практике используются несколько базовых вариантов организационных структур. На основании предложенной литературы определена проектная организационная структура научного проекта и представлена на рисунке 15.



Рисунок 15- Проектная организационная структура проекта

4.3.6 Матрица ответственности

Для распределения ответственности между участниками проекта формируется матрица ответственности (табл. 4.9.8).

Таблица 4.9.8. Матрица ответственности

Этапы проекта	Слепченко Г.Б., руководитель проекта	Горбенко М.В., эксперт	Устюжанина А.К., эксперт	Якимов Т.Б., эксперт	Хусаинова А.Ф., исполнитель
Составление технического задания	о				
Изучение литературы					и, о
Выбор направления исследования	о				и, о
Теоретические и экспериментальные исследования					и, о
Обобщение и оценка результатов	о				и, о
Разработка технической документации и проектирование	о				и, о
Оформление комплекта документации	о,с	о, с	о, с	о, с	и, о

Степень участия в проекте может характеризоваться следующим образом:

- ответственный (о)– лицо, отвечающее за реализацию этапа проекта и контролирующее его ход.
- исполнитель (и) – лицо (лица), выполняющие работы в рамках этапа проекта.
- утверждающее лицо (у) – лицо, осуществляющее утверждение результатов этапа проекта (если этап предусматривает утверждение).
- согласующее лицо (с) – лицо, осуществляющее анализ результатов проекта и участвующее в принятии решения о соответствии результатов этапа требованиям.

4.3.7 План управления коммуникациями проекта

План управления коммуникациями отражает требования к коммуникациям со стороны участников проекта. План управления коммуникациями приведен в таблице 4.9.9.

Таблица 4.9.9. План управления коммуникациями

№ п/п	Какая информация передается	Кто передает информацию	Кому передается информация	Когда передается информация
1.	Статус проекта	исполнитель проекта	руководителю проекта	еженедельно (среда)
2.	Обмен информацией о текущем состоянии проекта	исполнитель проекта	участникам проекта	еженедельно (понедельник)
3.	Документы и информация по проекту	исполнитель проекта	руководителю проекта	не позже сроков графиков
4.	О выполнении контрольной точки	исполнитель проекта	руководителю проекта	не позже дня контрольного события

4.3.8 Реестр рисков проекта

Идентифицированные риски проекта включают в себя возможные неопределенные события, которые могут возникнуть в проекте и вызвать последствия, которые повлекут за собой нежелательные эффекты. Возможные риски проекта приведены в таблице 4.10

Таблица 4.10. Реестр рисков

№	Риск	Вероятность наступления (1-5)	Влияние риска (1-5)	Уровень риска	Способы смягчения риска	Условия наступления
1	Технический	3	5	высокий	повышение требований, проработка технологии	неисправность оборудования
2	Организационный	5	5	высокий	финансирование проекта, расстановка приоритетов	нехватка ресурсов
3	Управление проектом	1	4	низкий	долгосрочное планирование	некомпетентное управление

4.4 . Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования

4.4.1. Оценка сравнительной эффективности исследования

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности научного исследования. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности.

Интегральный финансовый показатель $I_{рф}$ разработки определяется как:

$I_{рф} = \Phi_i / \Phi_{\max}$, Φ_i – стоимость i -го варианта исполнения;

Φ_{\max} – максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта (в т.ч. аналоги).

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее Численное увеличение бюджета затрат разработки в размах (значение больше единицы), либо соответствующее численное удешевление стоимости разработки в размах (значение меньше единицы, но больше нуля).

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_m^a = \sum_{i=1}^n a_i b_i^a, I_m^p = \sum_{i=1}^n a_i b_i^p \quad (10)$$

где I_m^a – интегральный показатель ресурсоэффективности для i -го варианта исполнения разработки;

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;

b_i^a, b_i^p – бальная оценка i -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;

n – число параметров сравнения.

Таблица 4.11. Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Объект исследования	Весовой коэффициент	Вольтамперометрический метод исп. 1	Хроматографический метод исп. 2
Чувствительность	0,30	5	5
Простота аппаратного оформления	0,20	5	2
Быстрота определения	0,30	5	3
Отсутствие пробоподготовки	0,20	5	4
Итого		5,0	3,6

$$I_{p-исп1} = 5 \times 0,3 + 5 \times 0,2 + 5 \times 0,3 + 5 \times 0,2 + 5 \times 0,2 = 5$$

$$I_{p-исп2} = 5 \times 0,3 + 2 \times 0,2 + 3 \times 0,3 + 4 \times 0,2 = 3,6$$

На основании рассчитанного интегрального показателя показано конкурентное преимущество разработанной методики определения патулина в нектарах и соках в сравнении с хроматографическими методами. Простота аппаратного исполнения и время, затрачиваемое на 1 анализ, являются безусловными плюсами при использовании методик с использованием метода вольтамперометрии.

ГЛАВА 5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

Научная работа проводилась во 2 корпусе ТПУ в лаборатории №230 научной группы профессора, д.х.н, ведущего научного сотрудника ИШХБМТ Слепченко Галины Борисовны.

Магистерская диссертация связана с вольтамперометрическим определением патулина во фруктовых соках и нектарах.

Целью данной части магистерской диссертации является обеспечение социальной ответственности при выполнении экспериментальной части научно-исследовательской работы, а также и на производстве, заключающееся в создании безопасных, безвредных, благоприятных и комфортных условий труда.

Патулин – микотоксин, вырабатываемый различными грибами, по крайней мере 60 различными видами, в частности *Aspergillus*, *Byssochlamys* и *Penicillium*. Обладает выраженными мутагенным и канцерогенным действиями. Содержится во многих пораженных гнилью овощах, фруктах и зерновых культурах, но наиболее характерными источниками являются яблоки и продукты их обработки, где содержание патулина может достигать до 17,5 мг/ кг он обнаруживается также в грушах, бананах, томатах, облепихе, абрикосах, персиках, черешне, винограде, клубнике, голубике, бруснике, калине. Правильная обработка, хранение и транспортировка продуктов могут ограничить рост грибков и выработку патулина. Общие методы обработки, включая пастеризацию, фильтрацию и ферментацию, влияют на содержание патулина в пищевых продуктах, но не являются достаточными мерами безопасности. Содержание патулина во фруктах и продуктах их переработки на сегодняшний день строго регламентируется, поэтому разработка высокочувствительных методик определения является актуальной задачей.

Нами была рассмотрена возможность использования метода инверсионной вольтамперометрии для количественного определения патулина во фруктовых соках и нектарах. Данный метод характеризуется высокой чувствительностью, низкими затратами на

пробоподготовку, маленькими объемами проб, необходимых для анализа, наличием автоматизированных комплексов.

Реальными пользователями данной методики могут быть пищевая промышленность, в особенности производители фруктовых соков, а также контрольно-аналитические лаборатории, контролирующие качество пищевой продукции инстанций.

Учитывая большое количество хроматографических методов, которые требуют длительного времени анализа, дорогостоящего оборудования, применение вольтамперометрии позволит сократить время, затрачиваемое на проведение одного анализа, и снизить его стоимость.

В данном разделе рассматриваются вопросы охраны труда и техники безопасности, связанные с работой в лаборатории, а также разрабатываются мероприятия по предотвращению воздействия на здоровье работников лабораторий опасных и вредных факторов.

Под социальной ответственностью понимается ответственность, в данном случае, химических предприятий за влияние ее решений и деятельности на общество и окружающую среду через прозрачное и этичное поведение, содействующее устойчивому развитию (здоровье и благосостояние общества); учитывающее ожидания всех заинтересованных сторон; соответствующее законодательству и согласующееся международным нормам поведения; а также интегрированное в деятельность всего предприятия и применяющееся в ее взаимоотношениях.

Под охраной труда на рабочем месте понимается обеспечение и поддержание максимально высокого уровня физического, психического и социального благополучия трудящихся, предотвращения причинения вреда здоровью из-за условий труда. А также, защита трудящихся от различных рисков здоровью и приспособление производственной среды к физиологическим и психологическим в соответствии с нуждами трудящихся.

Соблюдение всех правил охраны труда необходимо при использовании опасного оборудования, химических веществ и в производственных процессах из-

за риска аварийных ситуаций и несчастных случаев (травмы, смерть трудящегося) дабы ликвидировать неприятные последствия.

В данном случае объектом исследования явилась научно-исследовательская лаборатория для вольтамперометрического определения патулина [48].

5.1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

Для обеспечения корректной работы с использованием разработанной методики необходимо прежде всего ознакомиться с правовыми нормами и актами. Согласно [55] нормирован:

- режим рабочего времени - для работников, условия труда на рабочих местах, которых по результатам специальной оценки условий труда отнесены к вредным условиям труда 3 или 4 степени, или опасным условиям труда, - не более 36 часов в неделю. При этом максимально допустимая продолжительность ежедневной работы (смены) не может превышать 8 часов.
- защита персональных данных работника – согласно ТК РФ Статей 86-90. В данных статьях описаны: общие требования к получению от работника персональной информации и правила ее обработки, хранения и передачи при необходимости, а также ответственности за нарушение норм, связанных с обработкой и защитой персональных данных;
- оплата и нормирование труда- осуществляется с нормами трудового кодекса; Оплата труда в районах Крайнего Севера и приравненных к ним местностях осуществляется с применением районных коэффициентов и процентных надбавок к заработной плате. Размер районного коэффициента и порядок его применения для расчета заработной платы работников организаций, расположенных в районах Крайнего Севера и приравненных к ним местностях, устанавливаются Правительством Российской Федерации.
- особенности обязательного социального страхования и пенсионного обслуживания – согласно Федерального закона "Об основах обязательного социального страхования" от 16.07.1999 N 165-ФЗ (в редакции от 03.08.2018)

установлены права и обязанности застрахованных лиц на своевременное получение страхового обеспечения в порядке и на условиях, которые установлены федеральными законами о конкретных видах обязательного социального страхования.

Все работники лаборатории обязаны пройти инструктаж по технике безопасности: знать меры при возникновении аварийных ситуаций, расположение первичных средств пожаротушения, план эвакуации и нахождение кнопок оповещения.

Согласно [56] на работу в химико-аналитические лаборатории принимаются лица не моложе 18 лет, прошедшие медицинское освидетельствование для решения вопроса о возможности работы в лаборатории.

От каждого работника лаборатории требуется соблюдение следующих правил:

- к работе не допускаются лица, не прошедшие инструктаж (периодичность для студентов – 2 раза в год);

- работа с химическими веществами запрещена беременным женщинам и несовершеннолетним [ИОТ - 003 - 10];

- продолжительность работы в лаборатории составляет не более 8 часов в день (перерывы через каждые 45-50 минут)

- периодичность медосмотров – раз в год [57]

- при работе с химическими веществами следует предотвратить любую возможность проникновения в организм человека: через легкие, кожу или через рот;

- не использовать высокоопасные растворители для технических целей (мытья посуды);

- любые работы с газообразными, летучими или пылящими жидкими и твердыми веществами проводить только в вытяжном шкафу при включенной вентиляции, летучие твердые и жидкие вещества держать плотно укупоренными, а наиболее летучие — на специальных полках в вытяжном шкафу, взвешивать летучие твердые и жидкие вещества только в плотно закрывающихся сосудах;

-проникновение ядов в организм через кожу можно предотвратить или уменьшить путем соблюдения личной гигиены и применения спецодежды.

5.1.2 Организационные вопросы по компоновке рабочей зоны

Основным объектом в производственных условиях является рабочее место, представляющее собой в общем случае пространство, в котором может находиться человек при выполнении производственного процесса. Рабочее место является основной подсистемой производственного процесса. Под организацией рабочего места подразумевается его оснащение всеми необходимыми техническими средствами для выполнения трудового процесса, рациональная планировка производственной площади и установление четкой системы обслуживания, отвечающей требованиям технологического процесса, создание комфортных условий труда и обеспечение безопасности труда на рабочем месте.

К организации рабочего места в соответствии с [55], в условиях соответствующих требованиям охраны труда, предъявляются следующие требования: технические, организационные, экономические и эргономические.

К техническим требованиям относятся оснащение рабочих мест современным, исправным и безопасным оборудованием, инструментом, оснасткой, приборами и подъемно-транспортными средствами в соответствии с содержанием и особенностями производственных процессов.

Организационные требования состоят в рациональном расположении, имеющегося на рабочем месте оборудования, в пределах рабочей зоны, в нахождении оптимального варианта обслуживания рабочего места, создании безопасных и безвредных для работника условий труда.

С экономической точки зрения организация рабочего места должна обеспечить оптимальную занятость работников, высокий уровень производительности труда и качества работы.

Эргономические требования к организации рабочего места предусматривают размещение работника в зоне рабочего места и расположение в ней предметов труда, которые бы обеспечивали наиболее удобную рабочую позу, наиболее

короткие и удобные зоны движения, наименее утомительное положение при длительном повторении определенных движений.

Согласно [58] Конструкция рабочего места и взаимное расположение всех его элементов (сиденье, органы управления, средства отображения информации и т.д.) должны соответствовать антропометрическим, физиологическим и психологическим требованиям, а также характеру работы. При проектировании оборудования и организации рабочего места следует учитывать антропометрические показатели женщин (если работают только женщины) и мужчин (если работают только мужчины); если оборудование обслуживают женщины и мужчины - общие средние показатели женщин и мужчин.

Согласно [59]:

1. Рабочее место, его оборудование и оснащение, применяемые в соответствии с характером работы, должны обеспечивать безопасность, охрану здоровья и работоспособность работающих.

2. Конструкция рабочего места, его размеры и взаимное расположение его элементов (органов управления, средств отображения информации, кресла, вспомогательного оборудования и т.п.) должны соответствовать антропометрическим, физиологическим и психофизиологическим свойствам человека, а также характеру работы.

3. Уровни (концентрации) опасных и (или) вредных производственных факторов, воздействующих на человека на рабочем месте, не должны превышать установленных предельно допустимых значений.

4. Рабочее место и взаимное расположение его элементов должны обеспечивать безопасное, удобное техническое обслуживание и чистку.

5. Конструкция рабочего места должна обеспечивать удобную рабочую позу человека, что достигается регулированием положения кресла, высоты и угла наклона подставки для ног при ее применении и (или) высоты и размеров рабочей поверхности. Когда невозможно осуществить регулирование высоты и угла наклона подставки для ног, высоты и размеров рабочей поверхности, допускается проектировать и изготавливать оборудование с нерегулируемыми параметрами.

Организация рабочего места должна обеспечивать возможность изменения рабочей позы.

6. Рабочее место должно иметь достаточную освещенность соответственно характеру и условиям выполняемой работы и при необходимости аварийное освещение.

7. При выполнении работ, связанных с воздействием на работающих опасных и (или) вредных производственных факторов, рабочее место при необходимости должно быть оснащено средствами защиты, средствами пожаротушения и спасательными средствами.

Требования к средствам защиты, входящим в конструкцию производственного оборудования [60].

8. Взаимное расположение и компоновка рабочих мест должны обеспечивать безопасный доступ на рабочее место и возможность быстрой эвакуации при аварийной ситуации. Пути эвакуации и проходы должны быть обозначены и иметь достаточную освещенность.

5.2 Производственная безопасность

5.2.1 Анализ вредных и опасных факторов, которые может создать объект исследования

В ходе исследования использовались вредные химические вещества, оказывающие влияние на организм человека. Как уже упоминалось ранее, целью социальной ответственности в отношении трудящихся является ликвидация жизненно-опасных ситуаций, поэтому необходимо соблюдать следующее:

1. Обязательное применение средств индивидуальной защиты: лабораторный халат, очки, перчатки, респираторы.
2. Следование правилам санитарно-гигиенических норм: тщательное мытьё рук после работы, исключения принятия пищи и напитков на рабочем месте и т.д.
3. Обязательное присутствие вытяжных шкафов для проведения исследований и регулярное проветривание помещений.

4. Хранение реактивов согласно их срокам годности и герметичности.

Так, в ходе исследования использовались химические вещества различных классов опасности, которые напрямую оказывают негативное влияние на состояние здоровья человека воздушно-капельным путём, через кожу [49]. Характеристики возможных вредных веществ, при выполнении вольтамперометрического определения патулина в таблице 5.1.

Таблица 5.1. Характеристика веществ, применяемых для исследовательской работы

№ п/ п	Наименование	Физические свойства	Величин а ПДК, мг/м ³	Класс опасност и	Общая характеристика токсического действия
1.	Этиловый спирт [50]	Легко воспламеняюща я бесцветная жидкость с характерным запахом. Область воспламенения 3,6-19%	1000	4	В зависимости от дозы, путей поступления в организм, а также <u>толерантности</u> организма к токсическим дозам этанола, проявления различных психофизиологически х эффектов и степень их выраженности могут быть очень различны.
2.	Серная кислота (концентрированная) [51]	Бесцветная маслянистая жидкость	1	2	Поражает дыхательные пути, кожу, слизистые оболочки. Вызывает затруднение дыхания, кашель, нередко ларингит, трахеит, бронхит.
5.	Ортофосфорная Кислота (фосфорная кислота) [52]	Неорганическая кислота средней силы; с химической формулой H ₃ PO ₄ , которая при	1	2	Обладает повреждающим действием на кожные покровы и слизистые оболочки глаз.

		стандартных условиях представляет собой бесцветные гигроскопичные кристаллы. Т _{кип} = 42,35 °С.			
6	Патулин	Белая бесцветная жидкость со специфическим запахом	-	4	При попадании через ЖКТ в больших дозах возможен летальный исход
7	Гидроксид натрия [53]	белое твёрдое вещество	0,5	2	При попадании на кожу, слизистые оболочки и в глаза образуются серьёзные химические <u>ожоги</u> . Попадание в глаза вызывает необратимые изменения зрительного нерва (атрофию)

* ПДК – предельно-допустимая концентрация в воздухе рабочей зоны мг/м³

* Классы опасности:

- 1 класс опасности – чрезвычайно опасные
- 2 класс опасности – высоко опасные
- 3 класс опасности – умеренно опасные
- 4 класс опасности – малоопасные

Основные элементы производственного процесса на рабочем месте представлены в таблице 5.2 ниже.

Таблица 5.2. – Основные элементы производственного процесса, формирующие опасные и вредные факторы при выполнении работ на рабочем месте

Факторы (ГОСТ 12.0.003-2015)	Этапы работ			Нормативные документы
	Изучение фоновых электролитов, электродов	Разработка алгоритма методики количественного определения патулина	Проверка полученных методов	
1. Отклонение показателей микроклимата	+	+	+	<p>Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны приведены в ГН 2.2.5.1313–03.</p> <p>ГОСТ 12.1.007–76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.</p> <p>ГОСТ 12.4.011–89 ССБТ. Средства защиты работающих.</p> <p>ПНД Ф 12.13.1-03. Методические рекомендации. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения).</p> <p>СанПиН 2.2.4.548–96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений.</p> <p>ГОСТ 12.1.019 (с изм. №1) ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.</p> <p>Федеральный Закон Российской Федерации от 22 июля 2008 г. N 123-ФЗ "Технический регламент о требованиях пожарной безопасности.</p>
2. Превышение уровня шума	-	-	-	
3. Отсутствие или недостаток естественного света	-	-	-	
4. Недостаточная освещенность рабочей зоны		+	+	
5. Повышенное значение напряжения в электрической цепи, замыкание которой может произойти через тело человека	+	+	+	
6. Химические вещества	+	+	+	

5.2.2 Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов

Отклонение от показателей микроклимата

Во время работы в научно-исследовательской лаборатории трудящийся находится под влиянием микроклимата внутренней среды помещения в соответствии с основными показателями воздуха:

- температура (t) – 19-21⁰С;
- относительная влажность – 60 - 64%;
- скорость движения воздуха (v) – 0,2 м/с.

Данные показатели соответствуют оптимальным условиям. Также, согласно [54] удовлетворяют требованиям для категории 2а.

Для поддержания оптимальных параметров микроклимата в лаборатории на постоянной основе устанавливается вентиляционная система, подающая чистый воздух в рабочую зону и выводящая загрязненный. Помимо этого, устанавливается локальная вентиляция/вытяжная (загрязненный воздух выводится с помощью вентиляторов), собственно, для этого применяется вытяжной шкаф, где проводится исследовательская работа.

Недостаточная освещенность рабочей зоны

Для работы в лаборатории предпочтителен комбинированный тип освещения. В рабочей зоне должны присутствовать как естественное, так и искусственное виды освещения, чтобы не вызывать перенапряжение глаз трудящихся и увеличить производительность труда. В соответствии с [61] для работы в лаборатории рекомендуется значение освещенности в пределах 400 лк на рабочих столах от общего освещения. В производственных помещениях оба вида освещения необходимо контролировать с помощью люксметра каждый год.

В данной лаборатории используют искусственное и естественное освещение, поскольку работа в основном зрительная, то естественного освещения недостаточно, особенно в темное время суток.

Помещение имеет размеры:

А - длина помещения - 10 м;

В – ширина помещения - 7 м;

Н – высота помещения - 6 м.

Рекомендуемая освещенность помещения, при среднем контроле различия с тёмным фоном, составляет $E = 300 \text{лк}$. По таблице 10 методического пособия [62] коэффициент отражения светового потока от потолка, стен, соответственно равны: $R_{\text{п}}=50\%$, $R_{\text{с}}=50\%$. Потолок побеленный, в сырых помещениях. Стены свежепобеленные с окнами без штор.

С таблицы 9 методического пособия [62] коэффициент запаса $k = 1,5$ (помещение с малым выделением пыли); коэффициент неравномерности $Z = 1,1$, $h_{\text{рп}} - 0,85 \text{м}$.

Уровень от рабочей поверхности до потолка составляет:

$$h = h - h_{\text{р}} - h_{\text{с}} = 6 \text{м} - 0,85 \text{м} - 1 \text{м} = 4,15 \text{ м}$$

Для освещения используются светильники типа ОД мощностью 80 Вт, для которых оптимальность расположения светильников составляет $\lambda = 1,4$.

Расчетная длина между двумя рядами светильников:

$$L = \lambda * h = 1,4 * 4,15 \text{м} = 5,81 \text{м}$$

$$\text{Тогда } l = L/3 = 5,81/3 = 1,94 \text{м}$$

Число рядов светильников:

$$n = B/L = 10/5,81 = 1,72 = 2 \text{ряда}$$

$$\text{Тогда } l = L/3 = 2,2 \text{м}$$

$$N = 6 * 2 = 12 \text{ ламп}$$

Такое расположение ламп считаем уместным, т.к. рабочие места располагаются по периметру комнаты (рис.16).

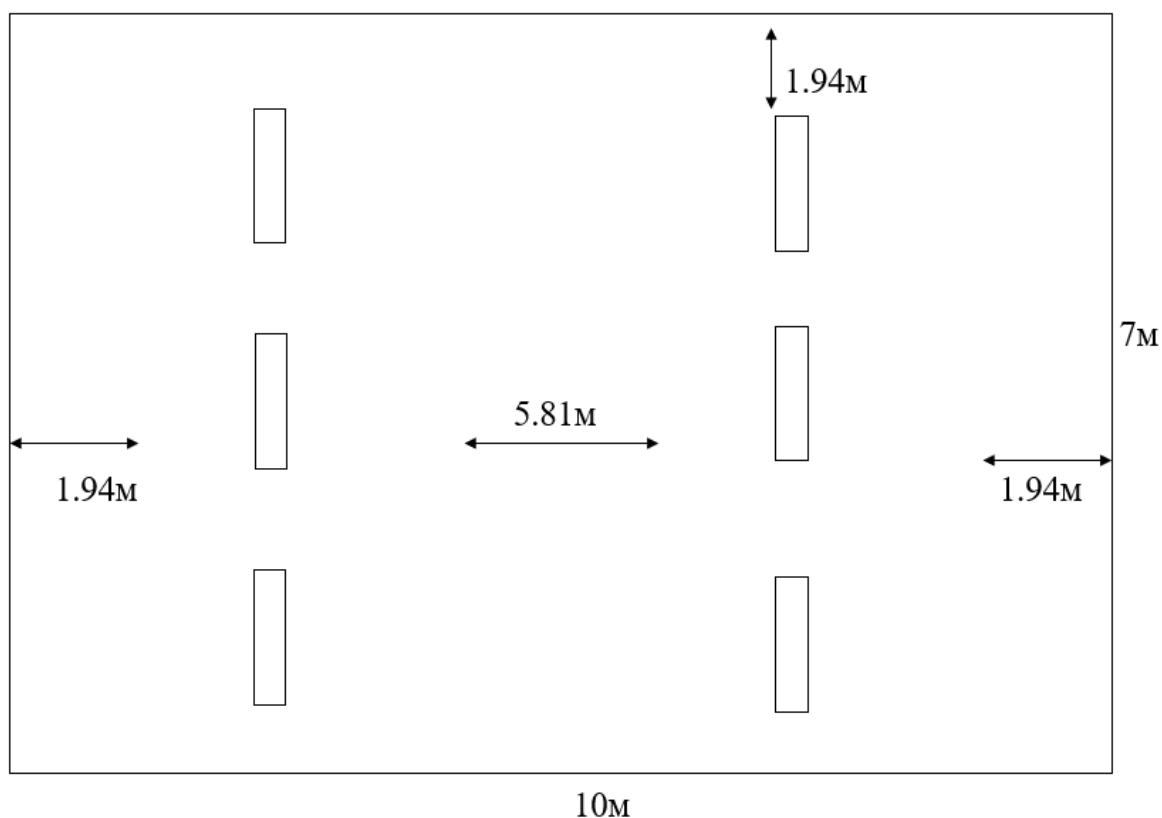


Рисунок 16 - Расположение лам в помещении.

Индекс освещения:

$$i = S/h(A+B) = 70/79,9 = 0,9$$

Определяем коэффициент использования светового потока:

$$\eta = 0,44 \text{ из таблицы 12 методического пособия [62].}$$

Определяем потребный световой поток ламп в каждом из рядов:

$$\Phi = 300 \cdot 70 \cdot 1,5 \cdot 1,1 / 12 \cdot 0,44 = 34650 / 5,28 = 6563 \text{ лм}$$

Из методического пособия [62] по таблице 1 выбираем ближайшую стандартную лампу – ЛТБ 80Вт с потоком 5200лм. Делаем проверку выполнения условия:

$$-10\% \leq (5200 - 6563) / 5200 \leq +20\%$$

$$-10\% \leq -26,2\% \leq +20\%$$

Определяем электрическую мощность осветительной установки

$$P = 12 \cdot 80 = 960 \text{Вт}$$

Зная все параметры помещения, тип светильников, коэффициенты отражения стен и потолка, индекс помещения, рассчитав световой поток, сделав проверку выполнения условий можно сделать вывод, что для достаточного уровня освещения для выполнения лабораторного анализа необходимо добавить 1-2 светильника.

Повышенный уровень шума на рабочем месте

Оценку уровня шума на в рабочих зонах проводят для соотнесения с установленными требованиями санитарных норм, для оценки шума от оборудования, с той целью, чтобы бороться с шумом. Чтобы оценить шум используют частотный спектр измеренного уровня звукового давления, выражающийся в децибелах (дБ) в активных полосах частот, который затем сравнивается с предельным спектром. Согласно [63,64, уровень шума не должен быть в пределах установленных требований. Согласно [65] адекватные параметры шума составляют 80 дБ.

Предельно допустимый уровень (ПДУ) шума - это уровень фактора, который при ежедневной работе не более 40 часов не должен вызывать отклонений в состоянии здоровья, обнаруживаемых современными методами исследований в процессе работы. Также, соблюдение ПДУ шума не исключает нарушение здоровья у сверхчувствительных лиц.

Электробезопасность

Электрооборудование должно быть устойчивым к условиям окружающей среды либо должно быть защищено от воздействий. Поскольку, например, сырость, жидкости, высокая температура окружающего воздуха увеличивают риск поражения током человека. Вдобавок, факторами возможного поражения током могут быть токопроводящие полы, а также близлежащих к электроприборам металлических заземлённых предметов, поскольку прикосновение человека и к этим предметам, и к оборудованию под напряжением может вызвать заряд электрического тока и пройти через тело человека. Лаборатория относится к особо опасным помещениям из-за химически активной среды (постоянное содержание

агрессивных газов, паров, жидкостей, разрушающе влияющих на изоляцию электроприборов и их токоведущих частей), и одновременно двух или более условий повышенной опасности. Чтобы предотвратить жизненно опасные ситуации из-за воздействия электрического тока, необходимо соблюдать правила защиты от поражения током согласно [19]. Также в связи с данной угрозой, электрооборудование в лаборатории должно иметь защитное заземление [67].

Напряжения прикосновения и токи, воздействующие на человека при нормальных условиях электроустановки не должны превышать: при переменном токе (50 Гц) <2 Ом и 0.3 Ам; при переменном (400 Гц) <3 Ом и 0.4 Ам; при постоянном <8 Ом и 1 Ам согласно [68].

Лабораторное помещение относят к 1-ому классу в соответствии с опасностью поражения электрическим током, либо наоборот, но без требующихся условий, создающих угрозу жизни человека [67].

Пожарная безопасность

Помещения рабочей зоны должны соответствовать требованиям пожарной безопасности и быть оснащенными средствами пожаротушения [69,70].

Проблемная научно-исследовательская лаборатория микропримесей Томского политехнического университета относится к классу Д, к зоне с пониженной пожароопасностью.

Пожар на рабочем месте может возникнуть при использовании неисправного электрооборудования, при коротком замыкании, при использовании открытых нагревательных приборов, при очистке, перегонке легковоспламеняющихся растворителей.

Для предотвращения пожара в помещении лаборатории выходы не загромождаются и проход между лабораторными столами свободен. А также все сотрудники ознакомлены с инструкцией и планом эвакуации, так как прохождение инструктажа по технике безопасности является обязательным.

В соответствии правилам пожарной безопасности в химической лаборатории на видном месте должен быть жидкостный или углекислотный огнетушитель у входной двери. Надо помнить, горящие нерастворимые в воде

вещества нельзя тушить водой (битум, масло, бензин, бензол), а также загоревшуюся электропроводку тушить водой нельзя.

Для тушения пожаров, если они возникли, в лаборатории всегда имеются следующие средства:

- ручной пенный огнетушитель ОХП-10 (предназначен для тушения пожаров твердых горючих материалов, ЛВЖ)
- ручной воздушно-пенный огнетушитель ОВП-10 (предназначен для тушения многих веществ/материалов, кроме щелочных металлов и веществ, горящих без доступа воздуха, а также электроприборов под напряжением)
- асбестовое одеяло (используется для тушения обесточенных электропроводов, горячей одежды)
- песок (для тушения обесточенных горящих проводов на горизонтальной поверхности).

Алгоритм использования огнетушителей: поднести огнетушитель к источнику пожара на дистанции не менее 1 метра, при помощи иглы/гвоздя прочистить спрыск, рычаг повернуть до отказа до 180°, перевернуть огнетушитель вверх дном и направить струю на огонь.

5.3 Охрана окружающей среды

При вольтамперометрическом определении патулина возможны некоторые вредные воздействия на воздушную среду, воду и может произойти загрязнение почвы. Чтобы исключить загрязнения, в таблице 5.3, приведены природоохранные мероприятия.

Таблица 5.3. Вредные воздействия на окружающую среду и природоохранные мероприятия при вольтамперометрическом определении патулина.

Природные ресурсы и компоненты окружающей среды. НД, регламентирующие экологические показатели	Вредные воздействия, источники загрязнения	Природоохранные мероприятия
Атмосфера	Газообразные продукты, образующиеся в ходе химических реакций на этапах анализа	Использование герметичного оборудования и шлифов; Использование химических фильтров для нейтрализации вредных газов
Гидросфера	Попадание в общую систему водоотведения реактивов, опасных веществ, например, ртути	Организация слива неорганических и органических отходов; Обезвреживание реагентов физическими и химическими способами, регенерация растворителей
Литосфера	Химическое загрязнение почвы при неверной утилизации органических отходов, реактивов	Соблюдение правил верного сбора и хранения твердых органических и неорганических отходов; Организация утилизации органических отходов.

Таким образом, основными природоохранными мероприятиями является создание логистической системы сбора, хранения, утилизации и, при возможности, регенерации неорганических и органических отходов, образуемые при использовании методики, возможно применение химических реагентов, для перевода токсических и загрязняющих веществ в безопасные либо менее токсичные.

5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях и чрезвычайные ситуации

Ключевой фактор соблюдения безопасности жизнедеятельности — это всегда быть наготове к всевозможным чрезвычайным ситуациям (ЧС).

В соответствии с ГОСТ Р22.0.02-94 ЧС представляет собой состояние, при котором возникает угроза жизни и наносится имуществу населения в результате появления очага ЧС на объекте, или на конкретной территории.

ЧС по причинам возникновения классифицируют следующим образом:

1. Стихийные бедствия (разрушительные явления природного характера, например, землетрясения, оползни, цунами, ураганы и т.д.)
2. Техногенные аварии (например, производственные аварии, правил эксплуатации оборудования, несоблюдение правил техники безопасности на предприятии, нарушение технологических процессов)
3. Социально-политические конфликты (например, межнациональные разногласия, применение оружия массового поражения террористическими группировками).

В случае производственной аварии в помещении лаборатории необходимо эвакуировать трудящихся, так как может начаться возгорание и ПДК химических веществ в воздухе может подняться. При возгорании нужно предотвратить распространение пожара/ядовитых химических веществ и обесточить лабораторию. Нужно вызвать специальные службы и оказать первую помощь нуждающимся. При этом персоналу необходимо обезопасить себя средствами индивидуальной и коллективной защиты. После ликвидации чрезвычайной ситуации помещение должно быть проветрено для выведения загрязненного воздуха.

В случае возникновения пожара эвакуация людей проводится согласно плану эвакуации (рисунок 17)

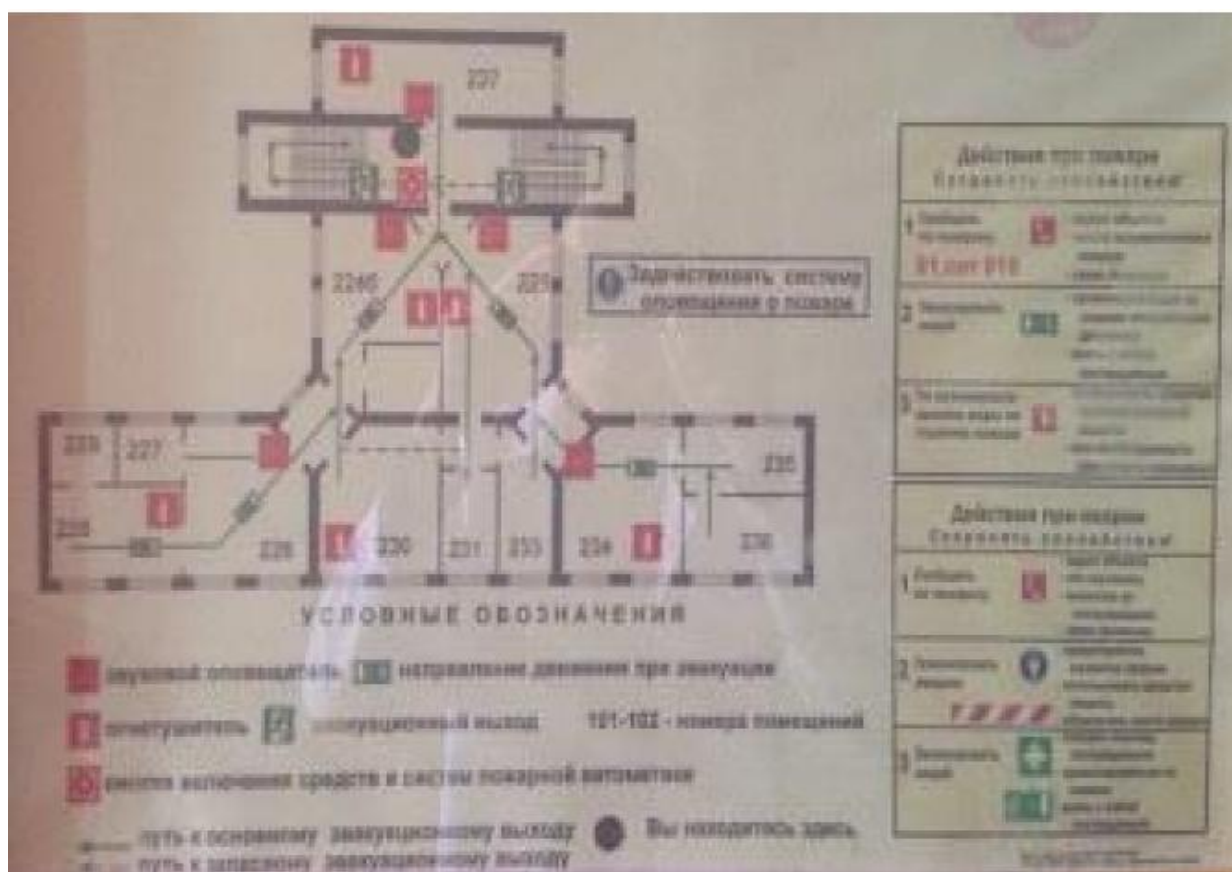


Рисунок 17 - План эвакуации из аудиторий 226-230, в которых расположена научная группа Слепченко Г.Б.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе большое внимание уделено вопросам изучения физико-химического поведения и выбору условий вольтамперометрического определения патулина. Проведены исследования электрохимического поведения патулина, регламентированного нормативными документами. Для патулина вольтамперные кривые для концентрации на уровне 10^{-7} - 10^{-9} моль/дм³ получены впервые.

В результате проведенных исследований был разработан алгоритм методики измерений массового содержания патулина в модельных растворах на стеклоуглеродном электроде.

Изучено влияние pH фонового электролита на аналитический сигнал патулина. Показано, что при pH 5,33 сигнал имеет более выраженный пик с максимальным значением тока, и происходит смещение потенциала пика в катодную область с переходом pH в кислую область.

Оценка правильности полученных результатов была проведена методом «введено-найдено» в варианте метода добавок. Опираясь на полученные данные, можно сделать вывод о том, что предложенный алгоритм методики определения патулина не уступает, а по ряду параметров превосходит известные способы.

На основании проведенных исследований выбраны рабочие условия измерения аналитического сигнала патулина и предложен алгоритм его вольтамперометрического определения. На сегодняшний день авторами разрабатываются методики количественного химического анализа патулина в пищевых продуктах и кормовых добавках.

Также в результате проведенной работы была спроектирована и создана экономически конкурентоспособная разработка, отвечающая современным требованиям в области ресурсоэффективности и ресурсосбережения.

Практическая значимость раздела социальной ответственности заключается в обобщении нормативной документации и анализа реальных условий труда, минимизации повреждающих факторов, способов улучшения и сохранения экологии. Соблюдение всех предложенных рекомендаций позволит избежать

сотрудникам повреждений различного характера, предотвратить возможные чрезвычайные ситуации, а при их возникновении трезво мыслить, правильно сориентироваться в сложившейся ситуации.

Список использованной литературы

1. Тутельян, В.А. Микотоксины / В.А.Тутельян, Л.В.Кравченко // М.: Медицина. 1985. С. 320.
2. Saleh I., Goktepe I. The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin // Food and chemical toxicology 129. 2019. P.301–311.
3. Barad S., Sionov E., Prusky D. Role of patulin in post-harvest diseases // Fungal biology reviews. V.30. Issue.1. April 2016, P. 24-32.
4. Li X., Li H., Li X., Zhang Q. Determination of trace patulin in apple-based food matrices // Food chemistry 233. 2017. P.290–301.
5. Sabino M. Detection and determination of patulin in fruits and fruit products // Public health laboratory of saõ paulo state av. Dr. Arnaldo 355, 01246-902, Brazil.
6. Cunha S.C., Faria M.A., Pereira V.L., Oliveira T.M., Lima A.C., Pinto E. Patulin assessment and fungi identification in organic and conventional fruits and derived products // Food control. V.44. October. 2014. P.185-190.
7. Holak W., Prossimo V.D., Malek G. Reductive voltammetric hplc detection of aflatoxins: determination of aflatoxin b1 in foods // J. Liq.crom & rel. Technol. – 1997. – v.20, №7. – p. 1057-1065.
8. Li Z., Wang Z., Sun X. A sensitive and highly stable electrochemical impedance immunosensor based on the formation of silica gel-ionic liquid biocompatible film on the glassy carbon electrode for the determination of aflatoxin b1 in bee pollen // Talanta. – 2010. – т. 80., № 5. – P. 1632-1637. DOI: 10.1016/j.talanta.2009.09.058
9. Горячева, И. Ю., Русанова Т.Ю., Бурмистров Н.А. Иммунохимические методы определения микотоксинов // журн. Аналит. Химии. 2009. Т.64, № 8. С. 788-806.
10. Майровский С.Г. Успехи электрохимии органических соединений – М: изд. Наука, 1966. С.115.
11. Sadok I., Stachniuk A., Staniszewska M. Developments in the monitoring of patulin in fruits using liquid chromatography: An overview // Food analytical methods. 2019. 12:76–93 <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1340-9>.

12. Zheng X., Li Y., Zhang H., Apaliya M.T., Zhang X., Zhao L., Jiang Z., Yang Q., Gu X. Identification and toxicological analysis of products of patulin degradation by *pichia caribbica* // J. Biological control. 123.2018. P.127–136.
13. Карасева Н.М., Амелин В.Г., Третьяков А.В. Одновременное определение патулина, трихотеценовых микотоксинов и зеараленона в зерне и кормах // УДК 636.085.3;633.1:581.192:543
14. María L. Fernández-Cruzmarcia L. Mansillajosé L. Tadeo. Mycotoxins in fruits and their processed products: analysis, occurrence and health implications // Journal of advanced research. 2010. 1. P. 113–122.
15. Филатченкова Е. В., Полянских Е. И., Фёдорова Т. А., Бельшева Л. Л. Особенности определения патулина в соках для детского питания методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Научно-практический центр гигиены. 27.08.2018
16. Shephard G.S. Determination of mycotoxins in human foods // Chemical society reviews. Doi: 10.1039/b713084h.
17. Стародуб Н.Ф., Пилипенко Л.Н., Егорова А.В., Пилипенко И.В. Микотоксин патулин: продуценты, биологическое действие, индикация в пищевых продуктах // УДК 528.288 — 11 + 577.18
18. Yasin O.Y, Erdoğan S., Olcay Sayin E., Kurultay S. Changes of patulin concentration in apple products during processing stages: a review // Tarım bilimleri araştırma dergisi 2.2.:47-52, 2009. Issn: 1308-3945, www.nobel.gen.tr
19. Исмагамбетова А.С., Сыздыкова А.У. Что такое микотоксины? // Научный журнал «Апробация», №4. (67). 2019.
20. ГОСТ 32920-2014 Продукция соковая. Соки и нектары для питания детей раннего возраста. Общие технические условия
21. ГОСТ 28038-2013 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения микотоксина патулина (с поправкой)

22. ГОСТ 34140-2017 Продукты пищевые, корма, продовольственное сырье. Метод определения микотоксинов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (с поправкой)
23. ГОСТ 32835-2014 продукция соковая. Определение микотоксинов методом tandemной высокоэффективной жидкостной хроматомасс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС)
24. ГОСТ 31748-2012 (iso 16050:2003) Продукты пищевые. Определение афлатоксина b(1) и общего содержания афлатоксинов B(1), B(2), G(1) и G(2) в зерновых культурах, орехах и продуктах их переработки. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (с поправками)
25. МУ 4082-86 «Методика определения афлатоксинов в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии»
26. ГОСТ 30711-2001 продукты пищевые. Методы выявления и определения содержания афлатоксинов B(1) и M(1)
27. ГОСТ 3 51435-99 (исо 8128-1-93) сок яблочный, сок яблочный концентрированный и напитки, содержащие яблочный сок. Метод определения содержания патулина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии
28. ГОСТ 31691-2012 зерно и продукты его переработки, комбикорма. Определение содержания зеараленона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (с поправками)
29. ГОСТ ISO 17372-2016 корма для животных. Определение содержания зеараленона методами иммуноаффинной колоночной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии
30. ГОСТ EN 15850-2013 продукты пищевые. Определение зеараленона в продуктах для детского питания на кукурузной основе, ячменной, кукурузной и пшеничной муке, поленте и продуктах на зерновой основе для питания грудных детей и детей раннего возраста. Метод ВЭЖХ с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и флуориметрическим детектированием

31. МУ 5177-90 методические указания по обнаружению, идентификации и определению содержания дезоксиниваленола (вомитоксина) и зеараленона в зерне и зернопродуктах
32. ГОСТ en 15891-2013 продукты пищевые. Определение дезоксиниваленола в продовольственном зерне, продуктах его переработки и продуктах на зерновой основе для питания грудных детей и детей раннего возраста. Метод взжх с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и спектрофотометрического детектирования в ультрафиолетовой области спектра
33. ГОСТ Р 51116-97 комбикорма, зерно, продукты его переработки. Метод определения содержания дезоксиниваленола (вомитоксина)
34. ГОСТ EN 15835-2013 продукты пищевые. Определение охратоксина а в продуктах на зерновой основе для питания грудных детей и детей раннего возраста. Метод взжх с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и флуориметрического детектирования
35. ГОСТ ISO 15141-2-2013 продукты пищевые. Определение содержания охратоксина а в зерне и зерновых продуктах. Часть 2. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с очисткой бикарбонатом
36. ГОСТ Р EN 15829-2011 продукты пищевые. Определение охратоксина а в коринке, изюме, кишмише, смесях сушеных фруктов и инжире сушеном. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением иммуноаффинной колоночной очистки экстракта и детектирования по флюоресценции (переиздание)
37. Yang Y., Li G., Wu D., Liu J., Li X., Luo P., Hu N., Wang H., Wu Y. Recent advances on toxicity and determination methods of mycotoxins in foodstuffs // Trends in food science & Technology. V.96. February.2020. P.233-252. Doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.021
38. Malik K.A., Blasco C., Picó Y. Liquid chromatography–mass spectrometry in food safety // Journal of chromatography A.1217. 2010. 4018–4040
39. Alcántara-Durán J., Moreno-González D., García-Reyes J.F., Molina-Díaz A. Use of a modified quechers method for the determination of mycotoxin residues in edible nuts

by nano flow liquid chromatography high resolution mass spectrometry // Food chemistry. V.279. 1 may.2019. P.144-149

40. Turner N.W., Bramhmbhatt H., Szabo-Vezse M., Poma A., Coker R., Piletsky S.A. Analytical methods for determination of mycotoxins: an update (2009-2014) // Analytica chimica acta. V.901. 11 december. 2015. P.12-33

41. Vidal A., Ouhibi S., Ghalib R. , Hedhili A., De Saeger S., De Boevre M. The mycotoxin patulin: an updated short review on occurrence, toxicity and analytical challenges // food and chemical toxicology. V. 129. July. 2019. P.249-256

42. Al-Gaal B., Salama S., Al-Qasmi N., Jaganjac M. Mycotoxin contamination of food and feed in the gulf cooperation council countries and its detection // toxicon. V. 171. 5 december. 2019. P. 43-50

43. Perestrelo R., Silva P., Porto-Figueira P., Pereira J.A.M., Silva C., Medina S., Camara J.S. Quechers - fundamentals, relevant improvements, applications and future trends // Analytica chimica acta. V.1070. 6 september 2019. P.1-28

44. Mandappa m.i., Basavaraj k., Manonmani h.k. Analysis of mycotoxins in fruit juices // fruit juices. Extraction, composition, quality and analysis. 2018. P.763-777

45. Ioi D.J., Zhou T., Tsao R., Marcone M.F. Mitigation of patulin in fresh and foods and beverages // Toxins (basel).2017.May,9(5):157. Doi: 10.3390/toxins9050157

46. Kharayat B.S., Yogendra S.Y. Mycotoxins in foods: mycotoxicoses, detection, and management // Microbial contamination and food degradation. Handbook of food bioengineering.2018. P.395-421

47. Авдеева Н.М. Пробоподготовка QuEChERS и дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция при одновременном определении микотоксинов различных классов хроматографическими методами // Саратов, 2013

48. ГОСТ Р ИСО 26000-2012 Руководство по социальной ответственности. 2013. М.: Издательство стандартов, 2002. – 131 с.

49. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения). Методические рекомендации ПНД Ф 12.13.1-03.

50. ГОСТ Р 51999-2002. Спирт этиловый технический синтетический ректифицированный и денатурированный. Дата введения: 01.01.2004.

51. ГОСТ 2184-2013 Кислота серная техническая. Технические условия (с Поправками)
52. ГОСТ 10678-76 Кислота ортофосфорная термическая. Технические условия (с Изменениями N 1-6)
53. ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия (с Изменениями N 1, 2)
54. Санитарные правила и нормы СанПиН 2.2.4.548-96 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений» (утв. постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 1 октября 1996 г. N 21).
55. Трудовой кодекс Российской Федерации от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. От 24.04.2020)
56. ПНД Ф 12.13.1-03. Методические рекомендации. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения)
57. Приказ Минздравсоцразвития России от 12.04.2011 N 302н (ред. от 18.05.2020) "Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда" (Зарегистрировано в Минюсте России 21.10.2011 N 22111).
58. ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования.
59. Методика выбора оптимальных форм нормирования и организации труда" (утв. ФСИН России).
60. ГОСТ 12.2.003-91 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Оборудование производственное. Общие требования безопасности
61. Васендин, В. Н. Расчет освещения помещений: метод. указания к лабораторной работе / В. Н. Васендин, Д. А. Кобалева. – Нижний Тагил: НТИ (ф) ГОУ ВПО УГТУ-УПИ, 2006. – 28 с.

62. Назаренко О.Б. Безопасность жизнедеятельности. Расчёт искусственного освещения. Методические указания к выполнению индивидуальных заданий для студентов дневного и заочного обучения всех направлений и специальностей ТПУ. – Томск: Изд. ТПУ, 2008. – 20 с.
63. ГОСТ 12.1.003-83 ССБТ. Шум. Общие требования безопасности.
64. ГОСТ 17187-81. Шумомеры. Общие технические требования и методы.
65. Федеральный закон РФ от 28 декабря 2013 г. N 426-ФЗ «О специальной оценке условий труда».
66. ГОСТ ИЕС 61140-2012 Защита от поражения электрическим током. Общие положения безопасности установок и оборудования (с Поправкой).
67. ГОСТ Р 12.1.019-2017 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.
68. ГОСТ 12.1.038-82 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электробезопасность. Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов (с Изменением N 1)
69. ГОСТ 12.1.004-91 ССБТ. Пожарная безопасность. Общие требования (с Изменением №1).
70. ГОСТ 12.4.009-83 ССБТ. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание (с Изменением №1).

Приложение А (Справочное)

Voltammetric determination of patulin

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
9ДМ81	Хусаинова Альбина Файзирахмоновна		

Консультант-лингвист

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент отделения иностраных языков	Устюжанина Анна Константиновна	к.ф.н.—		

1.2 Physico-chemical and toxicological properties of patulin

Patulin {4-hydroxy-4H-furo [3,2-c] pyran-2 (6H) -OH} (Fig. 1) is an unsaturated heterocyclic lactone [11], mycotoxin produced by various fungi, at least 60 different species, in particular *Aspergillus*, *Byssoschlamys* and *Penicillium*. Among *Aspergillus*, patulin-producing species include: *A. clavatus*, *A. giganteus*, and *A. longivesica*. In the genus *Penicillium*, there are 13 species producing patulin, including *P. carneum*, *P. clavigerum*, *P. concentric*, *P. coprobium*, *P. dipodomyicola*, *P. expansum*, *P. glandicola*, *P. gladioli*, *P. griseofulvum*, *P. marinum*, *P. paneum*, *P. sclerotigenum*, and *P. vulpinum* [12].

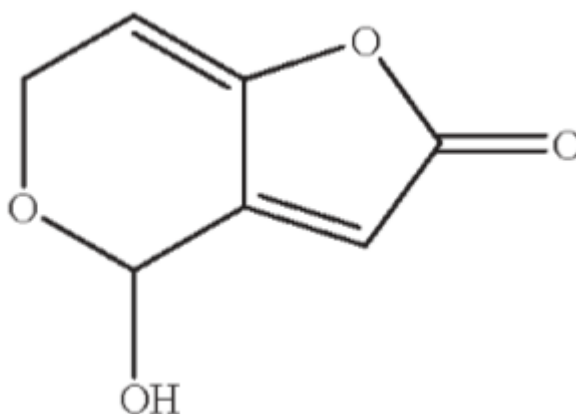


Figure 1 - The structural formula of patulin

Patulin has the empirical formula $C_7H_6O_4$, absorbs ultraviolet with one peak at 276 nm (which decreases after reaction with the SH group). This is a white powder with a molecular weight of 154.12 g / mol and a melting point of 111 °C [41]. It is soluble in water and polar organic solvents: methanol, ethanol, acetone and ethyl acetate. It is not destroyed by high temperature and it is quite stable in an acidic environment, but unstable in an alkaline environment and to fermentation. Due to its electrophilic nature, patulin reacts with nucleophiles, especially with sulfhydryl groups and amino groups, such as cysteine, glutathione, proteins, etc. It gradually breaks down when stored in the presence of sulfites, sulfhydryl groups and ascorbic acid.

The ultraviolet spectrum has an absorption band at 276 nm (ϵ 16600), due to the presence of a keto group conjugated to unsaturated bonds.

According to many biochemical studies, the pathogen biosynthesis of patulin consists of 10 stages (Fig. 2) [2].

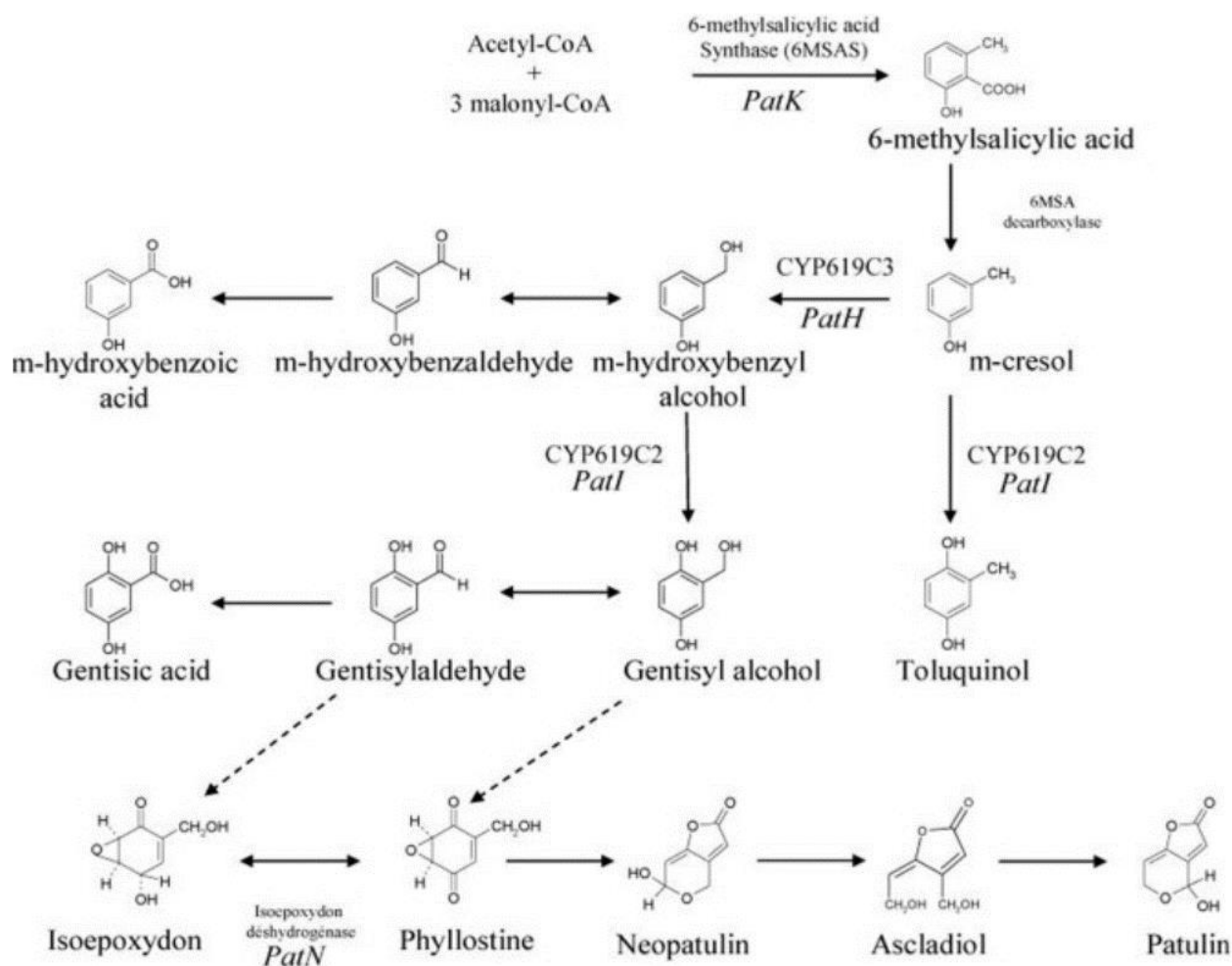


Figure 2 - Pathogen biosynthesis of patulin.

P.expansum is the main food contaminant producing patulin [2, 11]. As different microorganisms have different nutrient needs, certain types of fungi contaminate certain foods and even fruits. *P.expansum* prefers pome fruits and stone fruits, such as peaches, cherries and fruits, in which they cause “blue rot” (Fig. 3).

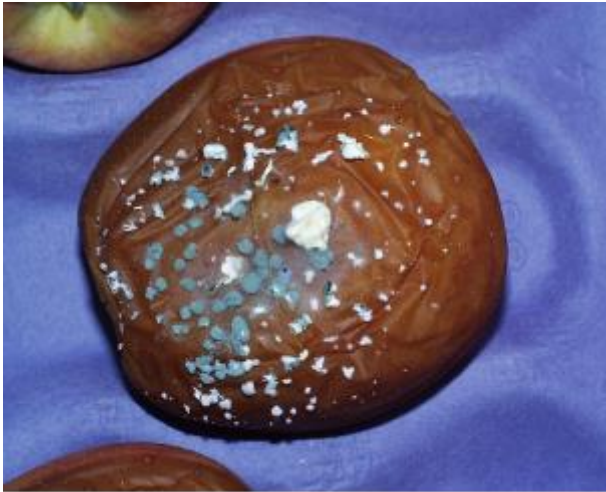


Figure 3 - Blue rot on apples

Patulin's production depends on various factors, such as temperature, pH and other physiological parameters. Temperature range for growth *P. expansum* and patulin production is 0–24 °C. It is still not clear when fungus secretes patulin. For example, the level of patulin secreted by *P. expansum* upon infection of apples can vary from 2 to 100 µg / g; however, the exact level is not associated with the infectious characteristics of fungal species, nor with their pathogenicity [2].

In studies of chemical stability it was reported that patulin did not break down in apple juice at a temperature of 80 °C for 20 minutes. There was also a slight patulin decrease could be observed in juice stored for up to 3 weeks at 22 °C. Patulin is resistant to thermal degradation, the pH range is 3.5–5.5 when heated to 125 °C.

The content of patulin in food can be reduced throughout the food processing chain. Proper handling, storage and transportation of products can limit fungal growth and patulin production. General processing methods, including pasteurization, filtration and fermentation, affect the content of patulin in food products, but are not sufficient safety [46].

The amount of patulin in juices can be reduced after the removal of rotten or damaged fruits, but cannot be completely removed, since mycotoxin diffuses into healthy parts of the fruit [44].

1.2.1 History of the discovery of patulin and the norms of its containing in products

Patulin is one of the common mycotoxins that has pronounced carcinogenic and mutagenic properties. Patulin is found in many rotten vegetables, fruits and grains, but the most typical sources are apples and their processed products, where the content of patulin can reach up to 17.5 mg / kg; it is also found in pears, bananas, tomatoes, sea buckthorn, apricots, peaches, cherries, grapes, strawberries, blueberries, lingonberries, viburnum. Patulin is easily found in fruit juices during processing due to its physical properties. Such as good solubility in water, stability when heated and in an acidic environment.

The study of this mycotoxin was originally associated with its antibiotic properties. after the discovery of penicillin in 1929, scientists were interested in finding other antibiotics produced by fungi. It was first isolated from *Penicillium griseofulvum* in 1943 by Harold Reystrike. Soon after its identification, patulin was studied at a British medical research center called “tercinin” as an antimicrobial agent against certain gram-positive and gram-negative bacteria, such as *Mycobacterium tuberculosis* [2]. In the 1940s, patulin was thoroughly studied for potential use as an antibiotic. Initially isolated as a broad spectrum antifungal drug. action, it was later found to inhibit more than 75 different bacterial species, including gram-positive and gram-negative bacteria, is also toxic to a wide range of other biological systems, including rats, cats, rabbits and mice. Only in 1954 did an outbreak of cattle poisoning demonstrate to veterinarians that patulin is mycotoxin. Due to its toxicity, use as an antibiotic has been discontinued [18].

In addition, it has been proven that patulin is toxic to both plants and yeast [12].

Patulin is included in the list of mycotoxins, the level of which in foods is regulated. This list includes aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, trichothecenes, and zearalenone.

National and international groups have recommended that the residual amounts of patulin not exceed 50 mg / kg for apple products used in human nutrition, while most countries regulate the level of patulin in juice from 20 to 50 mg / kg [18, 42].

Since 2003, the European regulation establishes a maximum level of patulin content of 50 µg / kg for fruit juices and derivative products, 25 µg / kg for solid apple products

and 10 µg / kg for juices and products intended for infants and young children [12]. Despite these rules, patulin is still found in foods around the world [45].

In addition, the level of patulin in apple products for children is 5 times lower than the acceptable level for adults, which indicates that children under the age of 12 are at risk (WHO, 2005). Children have a physiology different from that of adults, which makes them more vulnerable [3]. Many studies have also focused on exposure levels of various pollutants in pregnant women, as toxicants consumed by the mother can immediately affect fetal development. Thus, pregnant women are in another risk group.

In accordance with the recommendation of the European Commission and based on the established level of NOEL (no effect level) of patulin (43 µg / kg body weight), the preliminary maximum allowable daily dose of patulin was set at 0.4 µg / kg body weight. This level has been accepted by most of the health risk assessment analyzes performed on patulin (EC, 2006).

According to the requirements of the technical regulation of the customs union No. 021/2011 “on food safety”, the presence of patulin is not allowed in the fruit and vegetable products for children, pregnant and lactating women based on apples, tomatoes, sea buckthorn and viburnum [2].

1.2.2 Patulin-related adverse health effects

Currently, patulin is classified as a human carcinogen of group 3 by the International Agency for Research on Cancer (IARC, 1986) [14], which means that animal studies or epidemiological studies are insufficient to confirm its carcinogenesis (IARC, 2018).

The toxic effects of patulin can be associated with the formation of harmful adducts with sulfhydryl groups of important biomolecules. The affinity of patulin for sulfhydryl groups is widely described, explaining its inhibitory effect on many enzymes (ATPase, lysosomal enzymes, RNA polymerase, etc.), its undesirable effects include destruction of the plasma membrane, inhibition of protein synthesis, amino acid transport, and transcription disorder and translation, inhibition of DNA synthesis, interferon-producing T-helper cells of the 1st type.

Patulin LD50 is from 15 to 25 mg / kg and depends on the type of animals and the route of exposure [44].

Patulin is a highly reactive molecule capable of interacting with proteins to form intramolecular and intermolecular cross-links with specific amino acids, forcing them to behave as an enzyme inhibitor [45].

Acute symptoms of consuming patulin include agitation, cramps, shortness of breath, pulmonary congestion, gastrointestinal symptoms including nausea, vomiting, ulcer, intestinal hemorrhage, and damage to the duodenum. The chronic symptoms of the use of patulin include genotoxic, neurotoxic and carcinogenic effects.

Patulin can form intermolecular bonds with DNA molecules. These properties may explain the reported teratogenic and carcinogenic effects. There are no reports of possible toxicity of patulin by inhalation of the toxin in powder form.

In addition, WHO views patulin as a possible genotoxic compound (WHO, 2005).

Currently, the question of developing rapid, economical and highly sensitive methods for measuring mass concentrations of patulin in various objects, including food, remains open.

1.2.3 Mycotoxin control

Three main strategies for reducing the elimination of the presence of mycotoxins in food: prevention of mycotoxin contamination before and after harvest, detoxification of mycotoxins present in food, and inhibition of the absorption of mycotoxins in the gastrointestinal tract. Preventive measures aimed at suppressing the formation of mycotoxins in agricultural products are the most effective approach to prevent exposure to consumers. Proper farm management, plant growing methods to improve viability, the use of insecticides, fungicides, as well as biological control, irrigation and selection of varieties ensure that plants are less susceptible to adverse factors [44].

However, not every storage facility has access to all these technologies, and there are some problems with the excessive use of chemical fungicides. Improving the quality of fruits to be processed by washing, pruning and sorting - all these are very useful tools for controlling patulin. These processes may not be economically feasible for all

manufacturers, since they also significantly increase the waste of raw materials. The waste itself is a pollution problem and requires special attention when handling and disposing. Typical pretreatment methods are insufficient, and further reduction in the amount of patulin is necessary. However, the evidence is inconclusive regarding the actual effectiveness of these methods and therefore cannot be used to guarantee safety. In addition, there is concern about the potential toxicity of compounds resulting from the decomposition of patulin by some of these methods. Most of these products have yet to be identified, and some of them have been found to be toxic [45].

Post-harvest pollution can be avoided by controlling humidity, temperature, and microbiological pests, insects, and animals. Detoxification of mycotoxins by various physical, chemical and biological methods is less effective and sometimes limited due to safety problems, possible nutritional losses of processed products and cost implications. Some of the most promising interventions studied to date include the use of microorganisms to reduce the absorption of mycotoxins from consumed foods in the gastrointestinal tract. Clear evidence exists of the ability of probiotic bacteria to reduce the potential bioavailability of certain mycotoxins in humans, but further studies are needed [44].

1.3. Physico-chemical methods for the determination of mycotoxins

The fact that most mycotoxins are toxic at very low concentrations makes it necessary to have sensitive and reliable methods for their detection. A number of different analytical methods have been applied to the analysis of mycotoxins due to their different structure [44]. The determination of mycotoxins is based on the extraction of these substances with organic solvents, including acetonitrile, chloroform, toluene, methanol, ethyl acetate, and subsequent purification of the extract on immunoaffinity columns or by solid phase extraction.

For the determination of mycotoxins, immunochemical, chromatographic, optical and electrochemical methods are used. Immunochemical methods are used to selectively determine one or a small number of mycotoxins. It is based on the highly specific interaction of antigen and antibody. Direct and indirect ELISA methods were developed

for the detection of aflatoxins and Fusarium toxins in cereals, as well as for ochratoxin and patulin in wines and food samples [44]. The immunological principle is based on the interaction between an antigen (an analyte of interest) and an isolated antibody generated against an antigen. antibodies are immunoglobulins IgG or IgY. Molecular recognition is based on the spatial complement of certain chemical groups (epitopes) on the antigen, and not on the entire antigen. For the production of antibodies, mycotoxins are haptens (too small to cause an immunological response); therefore, they are conjugated to polypeptides or proteins to form an immunogen [16, 40].

The following methods are also applied:

Capillary electrophoresis (CE) is an instrumental method that provides the separation of components based on the charge in the solution, rather than the chromatographic interaction between the dissolved and stationary phases. Separation is achieved by migration of charged particles in a working buffer. Cations migrate to the cathode, and anions migrate to the anode under the influence of electroosmotic flow. The analytes are then detected using fluorescence or UV absorption. In combination with the detection of fluorescence, CE allows the detection of mycotoxins at trace levels [46]. Separation of uncharged particles can be achieved by introducing micelles in a technique known as micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC) [16].

In this regard, the researchers studied the possibility of using infrared (IR) analyzers and analysis of the main components for screening mycotoxins directly from a grain sample. The advantages of these methods are ease of use, quick result and indestructibility of the sample. Rotting of the core and fumonisin contamination in maize were detected using near-infrared reflection spectroscopy, which made it possible to distinguish between contaminated and clean batches [16].

Recently, various optical sensors based on antigen-antibody interactions have shown excellent performance for fast detection and with high sensitivity, including fluorescence, quartz microbalance (microbalance), surface plasma resonance, and so on. Sensory methods show high selectivity, while other methods have their advantages.

For the confirmatory analysis, more accurate and highly sensitive chromatographic methods are used [13], which allow one to separate the analyzed mycotoxin from

impurities and interference that may still be present after purification of the extract [3, 41, 42].

1.3.1 Chromatographic methods for the determination of mycotoxins

Quantitative determination of patulin in food products can be performed by several methods, such as thin layer chromatography (TLC), gas chromatography with mass selective detection (GC-MS), high performance liquid chromatography with various types of detection (UV, MS, DMD).

Thin layer chromatography (TLC) was the first method used to identify and quantify patulin in apple juice. TLC analysis of patulin was approved by AOAC based on a study by Scott (1974). This method involves extraction with ethyl acetate followed by purification using a silica gel chromatography column. The detection limit was 20 mg / L (Scott, 1974).

In this method, detection was achieved by spraying 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone with a detection limit of approximately 20 mg / L. However, its extracts were low, sensitivity was insufficient, and matrix separation was often problematic. Because of this, TLC has almost been abandoned in routine analysis of patulin [41, 42].

In general, TLC is an inexpensive, fast analytical method for obtaining high-quality or semi-quantitative visual assessments; reliable quantitative results can also be obtained using densitometric measurements.

Patulin is a low molecular weight polar molecule. its low variability limits its direct analysis by GC. Due to its limitation on volatile and thermostable compounds, the GC is not suitable method for commercial purposes.

In order to obtain a less polar, more volatile analyte and the yield of more specific ions, strategies such as acylation and the formation of trimethylsilyl ether have been adopted. The resulting derivatives are stable, with good chromatographic properties for reliable detection of patulin. After derivatization, the patulin can be detected using a GC detector with electron capture. However, GC without mass spectrometry lacks special capabilities for identification. MS was coupled to GC to provide additional selectivity and increase the sensitivity of the method. the internal standard (IS), especially the use of

patulin isotopes, compensates for the loss of target analytes and matrix suppression effects. Therefore, accurate quantitative GC – MS determination of patulin is based on derivatization and requires isotopic labeled patulin as IS, which was not commercially available until recently. The method has been successfully applied to determine patulin in apples and apple products, as well as in juices, cider and baby food, and fruit and quince jams. A relatively low detection limit of 5.8 mg / kg [4].

HPLC is widely used in the analysis of mycotoxins. The polar nature of mycotoxins and their solubility in water and organic solvents such as methanol and acetonitrile imply that they are readily separated by reverse phase HPLC columns, and this has led to a variety of methods. The extent to which HPLC is suitable for the separation of mycotoxins can be measured based on a database of retention times, retention rates, UV absorption maxima and prevailing monoisotopic ions for 474 fungal metabolites. The official method for determining patulin is high performance liquid chromatography (HPLC) with ultraviolet (UV) detection, as described by the Association of Official Analytical Chemistry. Chromatographic detection is mainly achieved using UV and fluorescence detectors, the successful application of ionization methods at atmospheric pressure has led to the development of a number of LC-MS methods capable of very low detection limits [38,40]. The introduction of LC-MS instruments has made it possible to develop multitoxin methods suitable for a number of structurally diverse toxins in a single chromatographic cycle. The need for such multitoxin methods lies in the fact that one type of mushroom produces various toxins and that one agricultural product may be contaminated with different types of mushrooms, which leads to the simultaneous appearance of a number of different toxins [16, 41, 42].

So, the most common method currently used to quantify patulin in fruit products is HPLC with UV detection [6,16]. This is the official method adopted by AOAC International (1995) for apple juice with a detection limit of 5 mg / L. However, interfering peaks of 5-hydroxymethylfurfural may occur on the chromatogram, which often makes it difficult to determine the exact content of patulin. Therefore, to confirm its presence, more specific detection methods, such as mass spectrometry (MS) after separation by LC or gas chromatography (GC), are usually used [7, 40, 41].

The HPLC-DMD method has the availability of equipment and higher sensitivity compared to TLC, and therefore is the most suitable for the analysis of fruit and vegetable products for the content of this mycotoxin [15].

A number of mycotoxins are not absorbed in the UV range, and suitable derivatization methods have been developed for them to detect UV or fluorescence. Examples of this are T-2 toxin and fumonisins [16, 41].

The combination of HPLC and MS using atmospheric pressure ionization (API) methods such as electrospray ionization (ESI) and atmospheric pressure chemical ionization (APCI), and the development of commercial benchtop instruments, have opened up new methodologies for the routine analysis of mycotoxins. While TLC and HPLC often require derivatization for sensitive detection, LC-MS provides a detection method that is independent of the formation of chemical derivatives or of UV absorption or fluorescence properties of the molecule [16].

To date, in the Russian Federation, the content of mycotoxins in grain, fruits and vegetables, dried fruits is determined using the following GOSTs and guidelines [13]:

1) GOST 34140-2017 “Food products, feed, food raw materials. method for determining mycotoxins using high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection ”[22];

2) GOST 32835-2014 “Juice products. Determination of mycotoxins by tandem high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) ”[23];

3) GOST 31748-2012 “Food products. Determination of aflatoxin B1 and the total content of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in cereals, nuts and their processed products. The method of high performance liquid chromatography ”[24];

4) MU 4082-86 "Methodology for the determination of aflatoxins in food products using high performance liquid chromatography" [25];

5) GOST 30711-2001 “Food products. Methods for detecting and determining the content of aflatoxins B1 and M1 ”[26];

6) GOST 28038-2013 “Products of processing fruits and vegetables. Methods for the determination of mycotoxin patulin ”[21];

7) GOST R 51435-99 Method for determining the content of mycotoxin patulin in apple juice, concentrated apple juice and drinks containing apple juice using HPLC "[27];

8) 8) GOST 31691-2012 "Grain and products of its processing, animal feed. determination of zearalenone content by high performance liquid chromatography "[28];

9) GOST ISO 17372-2016 "Animal feed. determination of the content of zearalenone by immunoaffinity column chromatography and high performance liquid chromatography "[29];

10) GOST EN 15850-2013 "Food products. Determination of zearalenone in corn-based baby foods, barley, corn and wheat flour, polenta and cereal-based foods for infants and young children. HPLC method using immunoaffinity column purification of the extract and fluorimetric detection "[30];

11) MU 5177-90 "Guidelines for the detection, identification and determination of the content of deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone in grain and grain products" [31];

12) GOST EN 15891-2013 "Food products. determination of deoxynivalenol in food grain, its processed products and grain-based products for feeding infants and young children. HPLC method using immunoaffinity column purification of the extract and spectrophotometric detection in the ultraviolet region of the spectrum "[32];

13) GOST R 51116-97 "Compound feed, grain, products of its processing. A method for determining the content of deoxynivalenol (vomitoxin) "[33];

14) GOST EN 15835-2013 "Food products. Determination of ochratoxin A in cereal-based products for feeding infants and young children. HPLC method using immunoaffinity column purification of the extract and fluorimetric detection "[34];

15) GOST ISO 15141-2-2013 "Food products. Determination of ochratoxin A content in grain and cereal products. Part 2. High performance liquid chromatography method with bicarbonate purification "[35];

16) GOST R EN 15829-2011 Food Products. Determination of ochratoxin A in cinnamon, raisins, raisins, dried fruit mixes and dried figs. The method of high-performance liquid chromatography using immunoaffinity column purification of the extract and detection by fluorescence [36].

1.4 Voltammetric methods for the analysis of food products on the content of mycotoxins

The physicochemical methods used for food analysis have their own disadvantages and advantages. For example, optical analysis methods require a long time, they are laborious, expensive reagents are used, and chromatographic analysis requires expensive equipment. As already noted, an EMA may be an alternative to these methods.

EMAs are based on processes that occur in the analyzed solution on the surface of the electrode or in the electrode space under the influence of an electric current. An analytical signal can be any electrical parameter that depends on the concentration of the analyzed solution and can be accurately measured. The measured parameter determines the analysis method and its name.

As the results of the literature review showed, EMA is undergoing rapid development, among them VA methods occupy a leading position (Figure 4).

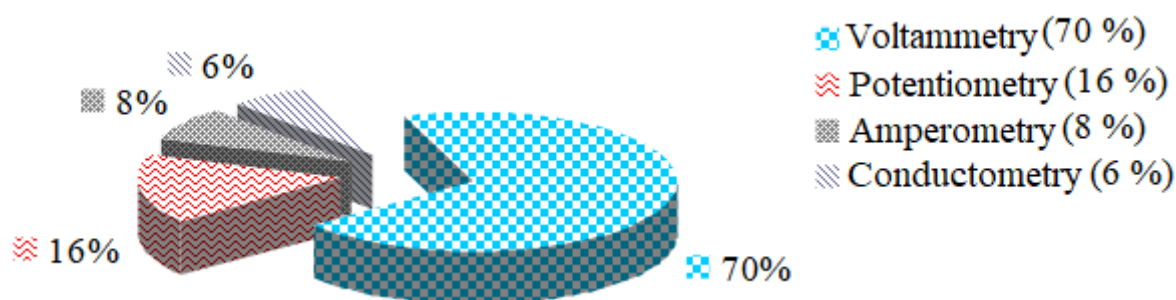


Figure 4 - Distribution of publications on electrochemical methods of analysis

Today, the bulk of publications are devoted to VA-methods for the determination of inorganic substances, in particular metals (Figure 5). However, over the past 5 years, there has been a tendency to increase publications on VA-determination of organic substances, namely the determination of a number of vitamins and antibiotics in model solutions, bio-objects, pharmaceuticals, less often in food products and, unfortunately, there is practically no work on VA-control of organic substances in food products.

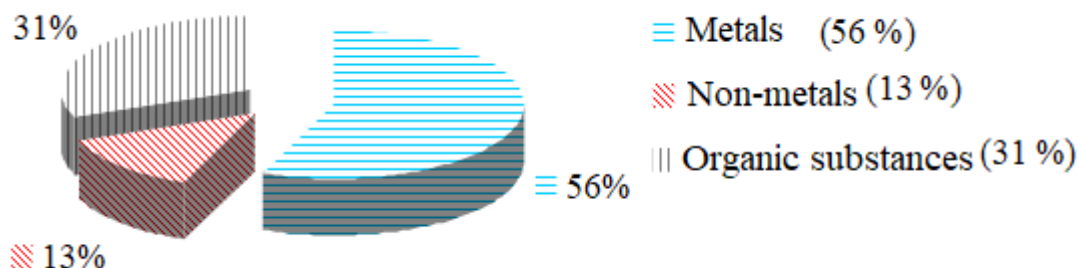


Figure 5 - Distribution of publications by defined components

VA methods are highly sensitive (comparable to AAS), fast, universal, economical, and have a wide diagnostic spectrum for determining components in various objects. To implement the VA methods, chemical reagents and sample preparation techniques are used. The methods are automated, which determines the cheapness of the research. The diagnostic capabilities of VA methods in food research facilities for aflatoxins are very promising.

So, for example, there is in [8] attachment a method for determining aflatoxin B1 was described by differential polarography. The authors for the joint determination of aflatoxin B1 and G1 as a background electrolyte proposed a solution containing a mixture of $0.1 \text{ mol / dm}^3 (\text{CH}_3)_4\text{NBr}$, $0.1 \text{ mol / dm}^3 \text{LiCl}$ and 40% CH_3OH . The peak potentials of the half-wave of aflatoxin B1 and G1 were recorded at $E_{1/2}(\text{afl B1}) = (-1.33 \pm 0.02) \text{ V}$ and $E_{1/2}(\text{afl G1}) = (-1.25 \pm 0.02) \text{ V}$ relative to AgCl - anode.

There is in [9] attachment described the determination of aflatoxin B1 by the electrochemical method on a glassy carbon electrode modified with silica gel-ionic liquid to form a biofilm in bee pollen. The authors increased the sensitivity of the sensor using 1-amyl-2,3-dimethylimidazolium hexafluorophosphate ionic liquid as a modifier. The sensor gave a linear response in the range of 0.1-10 ng / ml aflatoxin B1, the detection limit of 0.01 ng / ml. Compared to the classic silica gel sensor, the new sensor is 2 times more sensitive, 190 times more stable, aflatoxins B2, G1, G2, M1 do not interfere with the determination. The measure of correctness is 96.0-102.5%. In this method, the determination of aflatoxin B1 is complicated by the use of a modifying agent, which increases the total analysis time.

There is in [10] attachment the methods of differential pulsed voltammetry described the determination of aflatoxin B1 on graphite printed electrodes on the surface of which immunoreagents were immobilized. The authors used enzymes as a label that provides the appearance of the analytical signal. The substrate was 1-naphthylphosphate, the oxidation of which to 1-naphthol catalyzed alkaline phosphatase. The emerging current was recorded by differential pulse voltammetry methods. In this work, a graphite printing electrode requires updating and applying the enzyme, making the work more time consuming, and toxic reagents are also used. In the literature, voltammetric methods for the determination of mycotoxins are used on various carbon-containing electrodes with various modifiers and background electrolytes with different pH.